

Über Neodym-sulfo-isonikotinat,
seine Wirkungsweise und
Bestimmung in vitro et in vivo

Klaus Minde

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. W. S e i t z

Über Neodym-sulfo-isonikotinat, seine Wirkungsweise
und Bestimmung in vitro et in vivo

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
verfasst und einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt
von
Klaus Minde
aus
Leipzig



München 1957

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. S e i t z

Dekan: Professor Dr. W. B i c k e n b a c h

Tag der mündlichen Prüfung: 6. JUNI 1957

UNI-Druck, München 13, Amalienstr. 85

MEINEN LIEBEN

ELTERN



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554018_0070

Neodym und seine Bestimmungsmethoden

1. A. Geschichtliches

Die blutgerinnungshemmende Wirkung von Salzen der seltenen Erdmetalle ist schon seit mehr als 40 Jahren bekannt. Eine Gerinnungshemmung in vitro am Hunde- und Kaninchenblut durch die Sulfate des Cer, Lanthan, Neodym, Praeseodym und Samarium, wie auch durch Yttriumchlorid wurde bereits durch Frouin und Mercier 1913 beobachtet. (1)

Die Oxyde der seltenen Erden besitzen ausgesprochen basische Eigenschaften und sind in Wasser ebenso unlöslich wie Carbonate, Phosphate und Fluoride. Zum Nachweis aller seltenen Erden dient als klassisches Gruppenreagenz die Oxalsäure, wodurch aus saurer Lösung schwerlösliche Oxalate ausgefällt werden (2). Die Chloride, Sulfate und Nitrate sind dagegen leicht wasserlöslich.

Von den biologischen Wirkungen der Salze seltener Erden muß vor allem deren eiweißfällende Komponente erwähnt werden (3). Dabei ist bemerkenswert, daß eine Fällung nur dann eintritt, wenn die Salz- und Eiweißkonzentrationen bestimmte Schwellenwerte nicht unterschreiten. Die Flockung selbst ist reversibel - Niederschläge werden also sowohl durch Überschuß von Salz als auch Eiweiß aufgelöst.

Auf dieser eiweißfällenden Wirkung beruht die antiseptische und blutgerinnungshemmende Eigenschaft der seltenen Erden (4, 5, 6, 7, 8). Die ersten umfassenden Untersuchungen in vitro wurden von 1927 - 31 am pharmakologischen Institut der Universität Florenz angestellt. Dabei fanden Guidi (4) eine sehr ausgeprägte gerinnungshemmende Wirkung des NdCl_3 , Aiazzi (5) und Mancini eine solche des LaCl_3 , und Niccolini schließlich beobachtete einen ebensolchen Einfluß des Praeseodymchlorids und des Samariumchlorids (6, 7), ohne dabei jedoch eine mögliche therapeutische Anwendung beim Menschen zu verfolgen.

1936 stellten dann Dyckerhoff, Goossens und Mitarb. (8) auch in vivo die stark gerinnungshemmende Wirkung von Neodymchlorid und -acetat fest und empfahlen das Nd-acetat als Thromboseprophylaktikum und -therapeutikum. Ab 1937 wurden weitere Untersuchungen von Vincke, Oelkers und anderen vorgenommen, wobei sich ergab, daß die seltenen

Erden bei subcutaner, intramuskulärer und peroraler Zufuhr ohne Einfluß auf die Blutgerinnung sind (9). Es rührt dies von der praktisch nicht vorhandenen Resorption bei diesen Applikationsarten her. Aus diesem Grunde wurde das NdCl_3 bei Kaninchen intravenös zugeführt, wobei es zu einer sofortigen Verlängerung der Blutgerinnungszeiten kam. Damit war eine dem Heparin ähnliche Wirkung vorhanden, deren Maximum nach V i n c k e 30 - 120 Minuten nach der Injektion auftritt. Der gerinnungshemmende Effekt bleibt dagegen beim Neodym weitaus länger bestehen, was zu der Annahme führte, daß die Beeinflussung der Blutgerinnung auf einen anderen Mechanismus zurückzuführen ist als bei Heparin. Die Beobachtung der eiweißfällenden Eigenschaft des Nd (3) machte für S t e i d l e die Annahme wahrscheinlich, die Wirkung des Stoffes dadurch zu erklären, daß das Protein Thrombin, bzw. seine Vorstufe, das Prothrombin ausgefällt oder durch Bildung von Komplexen unwirksam gemacht wird.

Bei der Erprobung des Nd an Kaninchen zeigte es sich schon 1937 bei D y c k e r h o f f und G o o s s e n s, daß nach intravenöser Applikation großer Dosen nicht nur die Gerinnungszeit des Vollblutes, sondern auch diejenige des Oxalatplasmas bei Bestimmung nach Howell außerordentlich verlängert wird. Die Gerinnungszeit betrug z.B. 2 Stunden nach einer Injektion von 30 mg Nd/kg Körpergewicht mehr als 360 Minuten (Ausgangswert 1'35"). Nach 24 Stunden war die Blutgerinnung bei den verwandten Dosen stets wieder normal. Diese Ergebnisse wurden später von V i n c k e (47) bestätigt.

Unabhängig von all dem äußerten F i s c h l e r (12) wie auch W ö h l i s c h (13) die Vermutung, daß die Gerinnungshemmung durch seltene Erden auf eine Verringerung des Fibrinogengehaltes des Blutes zurückzuführen sei.

A. S c h m i t z (14) fand, daß bei einem Gehalt von weniger als 40 mg% Fibrinogen beim Kaninchen keine vollständige Gerinnung mehr entsteht.

H u d e m a n n (48) stellte an Rinderfibrinogenlösungen fest, daß bei mehr als 70 mg% Fibrinogen keinerlei Gerinnungshemmung zu beobachten ist.

Vincke fand nun in *vitro* bei einer Gabe von 50 mg/kg Nd ein Absinken des Fibrins von circa 300 mg% auf durchschnittlich 40 - 50 mg%, wobei sich allerdings die Möglichkeit aufat, daß durch die völlige Ausfällung des Prothrombins das Fibrinogen bei der verwandten Bestimmungsmethode nicht erscheint.

Um diese Theorie zu stützen, setzte er in *vitro* zum Blut Thrombin, fällte das Fibrinogen damit aus, und erhielt nach Zugabe der seltenen Erden prak-

tisch die gleichen Fibrinogenmengen wie vor der Injektion. Nur sehr hohe Dosen (z.B. 75 mg/kg Nd) bewirkten auch eine mäßige Verringerung des Fibrinogengehaltes, das von 288% nach einer Stunde auf 193 mg% absank.

Durch diese Untersuchungen konnte Vincke beweisen, daß die seltenen Erden als Antiprothrombine wirken. Zu einer Normalisierung des Prothrombinspiegels kommt es erst dann, wenn neues Prothrombin aus der Leber nachgeliefert wird. Es wird daher auch angenommen, daß die Antiprothrombinwirkung der seltenen Erden durch Vit K₁ aufgehoben werden, doch ist dieser Befund bisher von anderer Seite nicht bestätigt worden. (11)

In den Jahren 1938 - 1940 wurden zahlreiche wasserlösliche Salze seltener Erden dargestellt und pharmakologisch ausgewertet. Das Ziel dieser Untersuchungen war, eine Verbindung zu erhalten, die bei guter blutgerinnungshemmender Wirkung eine günstige Kreislaufwirkung besitzt, da schon früher über eine gewisse herzscheidende und blutdrucksenkende Komponente anorganischer Salze an Warmblütlern berichtet wurde (3). Man fand, daß die Salze seltener Erden, mit Nicotinsäure versetzt, eine blutdrucksenkende Wirkung vermissen ließen, auch die Herztätigkeit praktisch nicht beeinflusst wurde. Das Neodymnikotinat z.B. erwies sich in rund 100 Versuchen an Hunden und Kaninchen als fähig, in geeigneten Dosen die Bildung experimentell erzeugter Thromben zu verhüten, die bei den unbehandelten Kontrolltieren beinahe regelmäßig auftraten (16). Diese Verbindung ist aber sehr schwer löslich, konnte klinisch daher nicht angewandt werden. Ein häufig angewendetes Verfahren, organische Verbindungen durch Einführung von Sulfogruppen leichter wasserlöslich zu machen, führte auch hier zum Erfolg, wenngleich die Synthese des Neodymsalzes der 2-sulfonikotinsäure sehr schwierig war, so daß im weiteren Verlauf die leichter zugängliche 3-sulfo-nikotinsäure hergestellt und deren Neodymsalz bereitet wurde (17, 18).

COOH



SO₃ H

(C₅H₃N-COO-SO₃)₃ · Nd₂ · 8H₂O

Neodymsalz der 3-sulfo-iso-nikotinsäure. (Thrombodym)

3-sulfo-iso-nikotinsäure
(Pyridin-3-sulfon-4-carbonsäure)

Neben der antikoagulierenden Wirkung des Thrombolyt (21) soll der Anteil der Nikotinsäure dieser Verbindung eine peripher gefäßerweiternde Wirkung verleihen, was als schmerzlindernd und peripher durchblutungssteigernd Effekt therapeutisch wünschenswert erscheint (19).

B. Eigene Untersuchungen

1) Zur Gerinnungszeitbestimmung nach Applikation seltener Erden.

Trotz der Vielfalt schon vorangegangener Untersuchungen erschienen uns manche Widersprüche zahlreicher in der Literatur verzeichneter Experimente einer Nachprüfung wert. Zuerst einmal mußte festgestellt werden, ob die Prothrombinzeitverlängerung (Pt-Verlängerung) bei Anwendung der Methode von Q u i c k (10) nach Applikation von Nd intravenös nur am Oxalat- oder auch am Citratblut erfaßt werden kann, da einzelne Autoren ihre Ergebnisse auf diese, andere auf jene Bestimmung zurückführen. Im Gegensatz zu H a r t e n b a c h (20) konnten wir auch bei Gaben großer Nd-Mengen (bis 50 mg/kg) am Citratblut keinerlei Effekt beobachten, wogegen beim gleichzeitig abgenommenen Oxalatblut die Pt-Zeit bis auf mehr als 12 Minuten verlängert war. Die daran angeschlossenen Bestimmungen der Rekalkifizierungszeiten (Rec-Zeit) wie auch die zu verschiedenen Zeiten post injectionem (1. Abnahme 30' p. inj., 2. Abnahme 90' p. inj.) erfolgten Abnahmen ergaben eine signifikante Verlängerung von Pt- und Rec-Zeit am Oxalatblut, wogegen die Citratblutwerte sich vom Normalwert nur im Bereiche der Fehlerbreite abhoben. (siehe Fig. 1)

Den Grund dafür sahen wir in der Tatsache, daß die Citronensäure mit dem Nd eine Komplexverbindung in Form einer Schelatbildung eingeht, daher gegenüber allen neuerlichen chemischen Umsetzungen im Sinne des Massenwirkungsgesetzes abgeschirmt ist und deshalb eine Verlängerung der Gerinnungswerte gar nicht erwartet werden kann.

T h i e s s (22) fand, daß auch am Oxalatblut bei einer Bestimmung der Pt-Zeit erst 10 Minuten nach Blutentnahme die Pt-Werte beinahe wieder den Ausgangswert erreicht hatten. Bei einem Nullwert von durchschnittlich 13,5' ' wurden an 6 Patienten nach einer Gesamtgabe von 375 mg Nd Pt-Zeiten gemessen, die bei sofortiger Bestimmung nach Blutentnahme im Durchschnitt 49,0' ' betrugen, bei einer erneuten Messung nach 10 Minuten aber bereits auf 18' ' abgefallen waren. In paraffinierten Röhrchen dagegen blieben die Zeiten konstant. Als Erklärung dieses Effektes führt Thiess an, daß bei Mischung des Thrombocyten mit oxalsauren Salzen unlösliches Nd-oxalat ausfällt und Nd damit nicht mehr auf das Pt einzuwirken vermag.

Abgesehen davon, daß eine biologische Reaktion wohl schwerlich in einer solch einfachen Gleichung beschrieben werden kann, bedeutet diese Feststellung das Ende einer brauchbaren Pt-Kontrolle nach Applikation von seltenen Erden durch die Methode von Q u i c k (10), welche unserer Erfahrung nach doch sicherer ist als die bed-side Methode am Krankenbett (Modifikation F i e c h t e r). Aus diesen Gründen schien es wichtig, diese Befunde nachzuarbeiten.

Bei den von uns gespritzten Kaninchen wurde die erste Pt-Bestimmung sofort nach der Blutentnahme (d.h. in einem Zeitraum von höchstens 2-3 Minuten nach Abnahme) durchgeführt. Die Bestimmungen wurden generell nach 30', 60' und 120' stehen lassen bei 20°C wiederholt, um ein eventuelles Absinken der Pt- und Rec-Zeiten aufzeigen zu können. Außerdem nahmen wir jedem Tier 30' und 90' p.inj. Blut ab, um gleichzeitig festzustellen, nach welcher Zeitspanne der Maximaleffekt des Thrombodyms eintritt. Nach einer Injektion von 10 mg Nd-ion/kg i.v. bei 7 Kaninchen fanden wir im Mittel eine Verlängerung der Pt-Zeit auf 153% gegenüber dem Normalwert. Wurden von dieser Abnahme weitere Proben untersucht, so ergab sich nach 30' 152%, nach 60' 143% und nach 120' 141% des Normalwertes, wenn das Oxalatblut bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde. Die entsprechenden Werte der 2. Abnahme (90' p.inj.) beliefen sich auf 144%, 137%, 135% und 136%. Die jeweils parallel zum Pt durchgeführten Rec-Zeit-Bestimmungen ließen allgemein erkennen, daß bei Gaben bis 10 mg/kg Nd-ion diese den Pt-Werten entsprechende Verlängerungen aufweisen. Bei Abnahme I betrug die Erhöhung 146%, um nach den oben angegebenen Zeiten 148%, 139% und schließlich 130% zu betragen. Die entsprechende Abnahme II ergab eine Verlängerung auf 127%, die über 125%, 125% auf 113% zurückging. (siehe Fig. 2) Die an über 40 Hasen mit verschiedenen Dosen in ähnlicher Weise untersuchten Gerinnungszeiten untermauerten die Ergebnisse dieser Serie ganz eindeutig und führten uns zu dem Schluß, daß eine sofortige totale Zerstörung des Nd-Prothrombinkomplexes durch im Überschuß zugefügtes Oxalat kaum in Frage kommt, wenngleich eine langsame Abspaltung des Nd vom Prothrombinkomplex im Bereiche der Möglichkeit steht.

Diese Ergebnisse erklärten wir uns ebenfalls durch das Massenwirkungsgesetz, durch dessen Einfluß sich bekanntlich in jeder chemischen Reaktion irgendein Gleichgewicht herstellt, das sowohl freie Ionen als auch Salz in einer

Lösung aufweist. Da nun bei unserer Reaktion die Dissoziationskonstante von Oxalat zu Nd kleiner ist als jene von Ca zu Oxalat, verschiebt sich hier das Gleichgewicht nach der rechten Seite, d. h. zum Salz hin ($\text{Ca} + \text{Ox} \rightleftharpoons \text{CaOx}$),
($\text{Nd} + \text{Ox} \rightarrow \text{NdOx}$)
was aber das Vorhandensein von freien Ionen nicht ausschließt.

Diese Überlegungen gaben Anlaß zu einer Versuchsreihe, die zum Ziel hatte, jenes nach rechts verschobene Gleichgewicht durch ein Mehr an Ca nach links zu verschieben, um dadurch mehr Nd-Ionen in Lösung behalten und auch erfassen zu können.

Hierfür gab es 2 Möglichkeiten. Entweder verringerte man die immer im Überschuß vorhandene Oxalatmenge in der Spritze, so daß gerade noch das zur Bindung des Ca nötige Oxalat vorhanden war, oder man gab nachträglich Ca ins Blut, um das völlige Gleichgewicht zwischen Oxalat und Calcium herzustellen. Wir wählten den zweiten Weg, da uns die Gefahren des ersten zu groß schienen. Einmal nämlich ist gutes Durchmischen oft nicht möglich, ohne daß eventuell Vorgerinnsel auftreten; weiterhin ist ein exaktes Vorlegen in der Spritze der kleinen Mengen wegen recht schwierig. Bei einem Normalwert von 5,5 mg Ca auf 100 ccm Vollblut des Kaninchen reagieren in 9 ccm Blut 0,495 mg Ca mit 9 mg n/10 Oxalsäure (Mischungsverhältnis Blut:Oxalat wie 1:10). Calcium reagiert mit der Oxalsäure im Verhältnis 1:2,22 (Atomgewicht 40:90), so daß 0,495 mg Ca 1.099 mg Oxalsäure zu binden vermögen und von den ursprünglichen 9 mg noch 7,901 mg vorhanden sind. Die restlichen Oxalattmengen werden nun, zumindest theoretisch, durch Zugabe von 2,00 ccm einer 0,6%igen CaCl_2 -Lösung gebunden. Diese Menge genügt, obwohl sie unter dem exakt berechneten Wert (2,65 ccm) liegt, nachdem von Stewart (23) und Wöhlisch (24) an zahlreichen Versuchen bewiesen worden ist, daß die Gerinnung nur von ionisierten Ca (welches zwischen 70% und 90% der Gesamtmenge beträgt) abhängig ist.

Die Blutentnahmen erfolgten an 5 Hasen 30' p. inj. von 10 mg Nd-Ion/kg, wobei nach der ersten Bestimmung jeweils ein Teil des Blutes mit der entsprechenden Menge Ca versetzt und der andere Teil als Kontrolle mitbestimmt wurde. Wir bestimmten die Pt- und Rec-Zeiten sofort und nachdem das Blut 60' und 180' gestanden hatte, um gleichzeitig ein etwaiges Absinken der entsprechenden Zeiten erfassen zu können. Die Pt-Zeiten waren ohne Ca-Zusatz auf durchschnittlich 139% verlängert bei der Bestimmung,

die sofort nach der Abnahme erfolgte. Sie sanken nach 60' auf 129% und nach 180' auf 124% ab. Die entsprechenden Rec-Zeiten betrugen 160%, 150% und 140%. Die für das mit Ca versetzte Blut gemessenen Werte zeigten eine ungleich größere Differenz vom Ausgangswert, indem nämlich die Pt-Zeiten 60', nachdem das Ca zugesetzt war, auf 228% und 180' danach auf 227% verlängert waren. Die Rec-Zeiten entsprachen mit 220% und 206% im ganzen den Pt-Werten. (siehe Fig. 3)

Ganz ähnliche Resultate konnten wir bei einer sofort nach der Blutentnahme vorgenommenen Zugabe von Ca und direkt anschließenden Bestimmung der Pt- und Rec-Zeiten erzielen, womit der sofortige Einfluß von Ca-Gaben auf die Dissoziationskonstante bewiesen sein dürfte. Aller Wahrscheinlichkeit nach wird es sich also um ein, in diesem Falle Linksverschieben des Reaktionsgleichgewichtes handeln, wodurch mehr Nd-Ionen in Lösung gehalten und damit der Erfassung durch unsere Bestimmungsmethoden zugänglich gemacht werden.

Es wird gerade an diesen Beispielen offenbar, welche einen minimalen Teil der wirklichen Vorgänge im Innern des Organismus wir mit Hilfe der bisher bekannten Methoden deutlich zu machen in der Lage sind, und alle solcherart gewonnenen Ergebnisse sollten daher nur mit allergrößter Vorsicht ausgewertet und verallgemeinert werden, denn zweifellos ist gerade über die Wirkungen der seltenen Erden im Körper nur sehr wenig bekannt.

Es ist weiterhin sehr problematisch beim Kaninchen erzielte Ergebnisse der Gerinnungsphysiologie auf den Menschen zu übertragen. Auf der einen Seite hat das Kaninchen im Verhältnis zu seinem Körpergewicht weniger Blut (circa 1/20), andererseits ein größeres Gerinnungspotential, welches die Wahrscheinlichkeit nahe legt, beim Menschen bei gleichen Nd-Gaben/kg eine stärkere Gerinnungshemmung zu erwarten. Dabei sind wir uns über die vielen unbekannten Faktoren beim Kaninchen völlig im klaren.

Wir gingen daher an diese Fragen von 2 verschiedenen Seiten heran. Einmal wurde 7 Personen je 250 mg Nd-Ion gespritzt, diese Menge jeweils durch das Gewicht (in kg) dividiert und 7 Kaninchen die den Versuchspersonen jeweils entsprechende Menge Nd-Ion/kg injiziert. Die Blutabnahme bei Mensch und Kaninchen erfolgte immer 30' p.inj. Es zeigte sich, daß generell gesehen die Verminderung des Pt-Spiegels des Menschen eine größere ist als beim Kaninchen, wenngleich die Differenzen nicht allzu groß sind. (siehe Fig. 4)

Das nur sehr geringe Ansteigen der Rec-Zeit beim Menschen und Kaninchen erklärt sich aus der Tatsache, daß eine Gabe von 250 mg Nd-Ion an eine Person von z.B. 70 kg nur einer Menge von ca 3,5 mg/kg entspricht. Bekanntlich spricht die Rec-Zeit aber erst auf größere Dosen vieler Antikoagulantien an.

Außer diesen in vivo Versuchen sollte eine ähnliche Anordnung in vitro zur Lösung dieser Frage näher bringen. Auf 4 ccm Kaninchen- und Menschenblut gaben wir 1 ccm des 1:50 mit aqua dest. verdünnten Thrombodium, welches 0,5 mg Nd-Ion entspricht. So war sicher einmal der Unsicherheitsfaktor einer niemals konstanten Blutmenge aufgehoben. Die Ergebnisse zeigten nun ein von den in vivo Versuchen völlig verschiedenes Bild. Standen die Pt-Werte der ersten Versuchsanordnung etwa im Verhältnis 100 (Hase) zu 125 - 150 (Mensch), so war die Pt-Zeit des Menschen bei den in vitro Versuchen durchschnittlich um das Doppelte der entsprechenden Kaninchenwerte verlängert. Die Rec-Zeit lag beim Menschen in der in vitro Versuchsreihe nur um ca 50% höher als diejenige der Kaninchen, da, wie oben bereits erwähnt, erst größere Gerinnungszeitdifferenzen in der Rec-Zeit-Bestimmung zum Ausdruck kommen. Zweifellos beruhen diese großen Unterschiede zwischen Mensch und Kaninchen auf der Verschiedenartigkeit des Gerinnungspotentials, eine Tatsache, die praktisch von großer Bedeutung sein kann. (siehe Fig. 5)

II. Zur Frage der TE-Verhütung.

Gewisse Unklarheiten herrschen immer noch darüber, wie lange das Thrombodium im Körper wirksam ist. Thies und Boecker, sowie Hartenbach (25, 26, 20) kommen zu dem Schluß, daß erst nach 18 bis 24, ja 48 Stunden (abhängig von der injizierten Menge) der Ausgangspunkt wieder erreicht sei. Aus den dazu erbrachten Abbildungen geht allerdings hervor, daß 3 - 5 Stunden nach Applikation von maximal 250 mg Nd der Pt-Spiegel über 45% lag. Da aber ein völliger Embolieschutz nach den bisherigen Erfahrungen nur bei einer Senkung des Pt-Spiegels auf 15% - 30% gegeben ist, kann man wohl in einem solchen Falle nicht mehr von einer sicheren Prophylaxe sprechen. Wir prüften diese Ergebnisse nach und fanden, daß beim Kaninchen nach einer Applikation von 10 mg Nd-Ion/kg (was einer Gabe von 500 - 600 mg oder 40 - 50 ccm beim Menschen entspricht) die Wirkung nach 8 - 12 Stunden nicht mehr nachweisbar war, auch wenn die Bestimmung selbstverständlich sofort nach der Blutentnahme stattgefunden hatte. Gleiche Unter-

suchungen am Menschen bei einer Gabe von 250 mg Nd-Ion und einer aller 60 - 90' durchgeführten Kontrolle ergaben ebenfalls nach 6 - 8 Stunden den Ausgangswert. (siehe Fig. 6 und 7)

Aus diesen Ergebnissen ist klar zu ersehen, daß Thrombodym zum wirklichen Schutz gegen eine Thrombose oder Embolie, wenn man der Forderung eines Pt-Niveaus von 15 - 30% genüge tun wollte, 3 - 4 mal täglich gespritzt werden müßte. Hierbei treten allerdings andere, bisher vielleicht zu wenig beachtete Gefahren auf.

III. Zur Frage der Toxizität und deren Zustandekommen.

L a s s, S c h a r p f f und W u n d e r l i c h (27) führten Organverteilungsstudien mit Nd¹⁴⁷ markierten Thrombodym am Kaninchen durch. Nach Injektion einer Dosis von 2 mg/kg (die übliche therapeutische Dosierung liegt bei 3 - 4 mg/kg) wurde eine Speicherung, vor allem in Milz und Leber, wie auch Knochenmark und in geringem Maße auch in der Nebenniere gefunden bei einer Beobachtungszeit bis zu 67 Tagen. Bei Mäusen, die allerdings eine einmalige subtoxische Dosis erhielten, konnten noch nach 91 Tagen (3 Halbwertszeiten des Nd¹⁴⁷) in Leber, Milz und Knochenmark erhebliche Nd-Konzentrationen nachgewiesen werden.

Bei i. v. Injektionen von Thrombodym wurden nach 1 Tag 52%, nach 7 Tagen 40, 7% und nach 67 Tagen noch 38% des injizierten Nd in der Leber des Kaninchens festgestellt.

Schon D y c k e r h o f f und G o o s s e n s (22, 49) hatten anhand von histologischen Präparaten und durch spektrographischen Nachweis Nd in der Leber und Milz nachweisen können, wobei sich vor allem in der Leber nach höheren Dosen eine zentrale Läppchennekrose fand (28). Dies wurde von L a s s, S c h a r p f f und W u n d e r l i c h (27) bestätigt, indem sie auf g Organ berechnet in der Leber die im ganzen größte Speicherung von 670 Nd/g im Gegensatz zur Milz, wo sie die im Verhältnis stärkste Speicherung (970 Nd/g), dem Knochenmark (920 Nd/g) und Nebenniere (100 Nd/g) nachweisen konnten.

Diese Ergebnisse nahmen wir zum Anlaß die thromboembolieverhütenden Eigenschaften des Thrombodyms und ihre Toxizität an einer Anzahl von Versuchstieren mit Hilfe des Myotoxin-Thrombokinas-Tests (MTT) nach

Moossens (29), eines Thromboembolie (TE)-Modellversuches, der es gestattet, in vivo den Schutzeffekt von gerinnungshemmenden Mitteln zu bestimmen.

Vor wir auf die Ergebnisse mit diesem Test eingehen, sei auf das Prinzip dieser Methode kurz eingegangen.

Am Anfang der ersten Versuche zur Erzeugung einer experimentellen TE stand die Frage der pathologischen Benetzbarkeit eines Gefäßwandabschnittes, die man mit Hilfe in die Blutbahn eingeführter Fremdkörper herstellte, so daß es zu deren Außenflächen zu einer Thrombenabscheidung kam. In all diesen Versuchen stellte die Erzeugung des Schadens schon einen erheblichen Eingriff dar, der eine große Zahl unkontrollierbarer Nebenwirkungen in den Versuch brachte.

Enggenghager und Heidenhain (30, 31) gingen daher zur Infektion eines artspezifischen Frischmuskelextraktes über, dessen Wirksamkeit, wie Dyckhoff (32) und Mitarbeiter feststellten in Thrombokinase und Myotoxin begründet lagen. Erstere setzt die Umwandlung des Pt in Thrombin in Gang, letzteres schädigt den Kreislauf, so daß es zu einem Kollaps kommt. Die chemische Natur des Myotoxins ist allerdings noch nicht geklärt.

Es werden also 2 Hauptfaktoren der Thrombokinese erfaßt, nämlich die Blutströmung und das Gerinnungspotential. Nach Green und Bieleschowski (33, 34) enthält Myotoxin reichlich Adenosintri-phosphorsäure. Erst die Kombination von an sich nicht letalen Einzeldosen von Thrombokinese und Myotoxin führt zur TE.

Durch getrennte Herstellungsmethoden für Tpl (Thromboplastin) und trockenem reinem Myo (Myotoxin) wurden die Anfangsschwierigkeiten, hervorgerufen durch den nur 20 Minuten haltbaren Frischmuskelextrakt, überwunden. Es war somit möglich, die beiden aktiven Substanzen so zu mischen, daß bei 100% der nicht vorbehandelten Tiere nach Injektion eines Tpl-Myo-Gemisches ein autopsisch nachweisbarer TE-Tod eintrat. Gleichzeitig wurden die starken Aktivitätsschwankungen der einzelnen Chargen ausgeschaltet. (29)

Wir bestimmten in Vorversuchen die Dosen Myotoxin, bzw. Thromboplastin, welche sich gerade noch als nicht letaltoxisch erwiesen, kombinierten die festgestellten Mengen der betreffenden Myo- und Tpl-Charge und erzielten immer eine typische TE, d.h. eine experimentelle Lungenembolie.

Alle solcherart gewonnenen Resultate müssen selbstverständlich immer von der Voraussetzung aus betrachtet werden, daß Kaninchen individuell, d.h. von Rasse, Alter, Ernährungszustand, vorheriger Behandlung etc. abhängig reagieren. Außerdem dürften meteorologische Einflüsse eine erhebliche Rolle spielen, wenngleich diese noch in keiner Weise exakt zu fassen sind. Trotzdem sind sowohl qualitative als auch quantitative Vergleiche mit dieser Methode möglich, wie sie bisher mit Hilfe anderer Methoden kaum zu erreichen waren. (29)

Um festzustellen, bei welcher Pt-Verminderung durch Nd ein sicherer TE-Schutz zustande kommt, war es zunächst notwendig, eine Eichkurve anzulegen. Diese gewannen wir, indem 7 Kaninchen jeweils 2 ccm Blut genommen, gemischt und anschließend eine Verdünnungseichkurve angelegt wurde, so daß wir die Pt-Verminderung in % abzulesen vermochten. Die Differenzen des Pt-Abfalles nach gleicher Dosis von Thrombocyten sind sehr erheblich. Aus diesem Grunde wurde mit der verhältnismäßig hohen Dosis von 12 mg Nd-Ion/kg begonnen, um eine Pt-Verminderung unter 35% garantieren zu können. Die 5 Tiere überlebten mit einer Ausnahme (Pt 42%) den Eingriff ohne irgendwelche Zeichen eines Schockes. Das jeweils 2 Minuten vor dem MTT abgenommene Blut ergab einen Spiegel von 42%, 31%, 25%, 22%. Das Tier mit dem Pt-Spiegel von 42% schien nach der MTT-Injektion etwas angegriffen zu sein, erhölte sich aber nach 3 Minuten wieder vollständig. Es schien sich um einen Schwellenwert zu handeln.

Bei einer Gabe von 8 mg Nd-Ion/kg an 3 Tiere überlebte keines der Kaninchen den Eingriff. Alle Tiere zeigten vielmehr nach 2 - 4 Minuten einen typischen TE-Exitus. Der Pt-Spiegel belief sich auf 36%, 35%, 30%, wobei zu bemerken ist, daß sich bei der Sektion des letztgenannten Tieres ein alter hämorrhagischer Infarkt der linken Lunge fand, vergesellschaftet mit einem verdickten Pericard, was die Vermutung zuläßt, daß es sich hier um einen in seiner Abwehrkraft geschwächten Organismus handelte.

Die Versuche als Ganzes betrachtend läßt sich wohl sagen, daß beim Nd ein wirksamer MTT-Schutz erst bei einer Verminderung des Pt-Spiegels unter 30% vorhanden ist, wobei der Herausfall des einen Wertes (mit 42% Pt) als Ausnahme betrachtet werden kann (siehe Fig. 8)

Nachdem das Nd in der Leberzelle gespeichert wird, lag die Vermutung nahe, daß bei einer Dauergabe von Nd dieses nicht nur am Prothrombin-

komplex, sondern auch in der Leber selbst, d.h. an der Bildungsstätte mehrerer zur Blutgerinnung nötiger Stoffe, anzugreifen vermag. Somit könnte ein TE-Schutz schon bei einer Pt-Verminderung, die über den Werten bei den Dicumarolen liegt, vorhanden sein, da eventuell noch andere Gerinnungsfaktoren (Thrombokinasebildungsfaktoren, Inhibitoren?) in ihrer Aktivität verändert wären.

In Dauerversuchen injizierten wir daher insgesamt 10 Kaninchen täglich eine Menge von 10 mg Nd-Ion/kg, die einer etwa doppelt bis dreifachen therapeutischen Dosis entspricht. Dabei hatten wir das Ziel, nach einer einwöchigen Vorbehandlung einen MTT-Versuch anzuschließen und dabei eventuell schon bei Gaben von nur 8 oder 6 mg Nd-Ion/kg einen MTT-Schutz vorzufinden. Hierzu kam es allerdings fast niemals, da 8 von 10 Tieren nach 4 - 6 Tagen ad exitum gekommen waren, und ein weiteres kurz vor dem wahrscheinlichen Exitus in den MTT-Versuch genommen wurde, den es dann auch nicht überstand. Die Tiere erschienen meist schon am 3. Tage, von dem an jegliche Futteraufnahme verweigert wurde, stark geschädigt. Und obwohl wir die tägliche Injektion von diesem Augenblick an schon einstellten, (somit erhielten die meisten Tiere nicht mehr als insgesamt 40 - 50 mg Nd-Ion/kg) konnten wir keine Erholung sehen.

In der Literatur fanden wir folgende Angaben. Von B a m a n n (35) wurden ähnliche Dauerversuche mit Nd angestellt, wobei allerdings weit höhere Dosen (50 - 60 mg Nd/kg) Anwendung fanden. Die Versuchstiere reagierten darauf mit Fresslust, Gewichtssturz bis zu 10% innerhalb von 24 Stunden. Der Blutzuckergehalt ging zurück, es kam zu einzelnen hypoglykämischen Krämpfen. Im Urin fand sich eine starke Urobilinogen- und Urobilinausscheidung. Der Rest-N im Blutserum stieg an. Bei der Autopsie waren die Lebern verkleinert und gelblich verfärbt. Starke Verfettung und Vervakuolisierung, verbunden mit einem cirrhotischen Zwischengewebe wurde beobachtet. An anderen Organen fanden sich keine weiteren Veränderungen, nur bei ganz schweren Fällen auch in der Milz verklumpte Zellhaufen.

F. F i s c h l e r (36) hat erstmals festgestellt, daß in der Leber als einzigem Organ die Neubildung von Zucker aus Eiweiß und Fett stattfindet. Bei einem zuckerfreien Ablauf des inneren Stoffwechsels muß es daher zur Totalentgleisung des Gesamtstoffwechselablaufs mit Bildung toxischer, zum Tode führender Stoffe kommen. Eine Regeneration ist nicht möglich. Das ganze

Zustandsbild wird als 'glykopriver Intoxikation' bezeichnet.

B a m a n n und M e i s e n h e i m e r (37) weisen nun vor allem auf die Einwirkung seltener Erden auf die Phosphorsäureverbindungen hin. Die seltenen Erden wirken wie Phosphatasen, d.h. sie spalten Ester der Phosphorsäuren. Darüber hinaus erstreckt sich ihre katalytische Wirkung aber auch auf die Phosphorverbindungen, die sich auf den Kohlenhydratstoffwechsel beziehen, z.B. Glucose-1-phosphorsäure, Fructose-6-phosphorsäure, Glucose-6-phosphorsäure, Fructose-1, 6-di-phosphorsäure und 3-Glycerinphosphorsäure. Ebenso werden aber die als Phosphat-Donator und Energieübertragungssystem im Körper eine Rolle spielende ATP, sowie deren Abbauprodukt die Muskeladenylsäure hydrolisiert. Auch die Ribonucleinsäure und Desoxyribonucleinsäure erfahren eine Aufspaltung. Sicherlich wirken sie aber auch noch auf andere Stoffe.

Es ist nun verständlich, warum gerade in der Leber, der größten Stoffwechseldrüse, die meisten Schädigungen auftreten, wie F i s c h l e r und R o e c k l (38) schon 1938 an grundlegenden Versuchen aufdecken konnten. Wenn nämlich die in der Leber zentralisierte normale Regulation des KH-Stoffwechsels unmöglich gemacht wird, sei es - wie bei der glykopriiven Intoxikation - dadurch, daß KH in Stoffwechsel völlig fehlt oder sei es durch Störung der Umsetzung der Kohlehydrate wie bei den seltenen Erden, dann führt dies über leichtere und schwerere Degenerationserscheinungen in der Leber zum Tode des Individuums. Bei Absetzen der seltenen Erden regeneriert das Gewebe allerdings durch Bildung von Mitosen. Das sehr geschwächte oder abgestorbene Gewebe wird durch Bildung von Narbengewebe ersetzt. Außerdem ist die toxische Wirkung der seltenen Erden parallel ihres Dephosphorylierungsvermögens (z.B. Cer) am stärksten.

B a m a n n (35) führte bei einer experimentellen Verminderung von KH-Vorräten auch bei nicht toxischen Dosen von Nd einen exitus herbei. Daraus schließt er auf die Möglichkeit, daß bei dieser Verminderung die seltenen Erden auch an Stoffe im Zellinnern und dadurch schwerer zugänglichen Stoffen katalytisch herangehen, während ohne KH-Verminderung die erste Einwirkung der Katalysatoren sich den im Säftestrom des Organismus bzw. der Organgewebe leichter zugänglichen Phosphorsäureverbindungen zuwendet. Eine solche deletäre Einwirkung auf das Zellinnere, vor allem den Zellkern, muß zum Zelltod und völliger Degeneration der Zelle führen.

Weiterhin führt B a m a n n (35) an, daß die hydrolytische Aufspaltung von Fett in der Leber, die am Auftreten freier Fettsäuren nachzuweisen ist, ebenso eine Folge des gestörten KH- wie auch Phosphatstoffwechsels sein kann, wobei die enzymatische Spaltung der Fette vor deren Synthese die Oberhand gewinnt.

Die Auffassung, daß die phosphatatisch-katalytische Fähigkeit der seltenen Erden ihre hauptsächlichste biologische Einwirkung im Stoffwechsel darstellt, kann auch für die Erklärung des auffallenden Unterschiedes ihrer Wirksamkeit bei intravenöser und subcutaner oder oraler Applikation herangezogen werden. Eine i.v. Zufuhr löslicher Salze seltener Erden führt diese mit dem Blutstrom auf kürzestem Wege an die Stätte der vorwiegenden KH-Umsetzungen, in die Leber. Diese Voraussetzung ist aber nach subcutaner oder oraler Zufuhr nicht gegeben, da die Resorption sowohl aus dem Unterhautzellgewebe als auch aus dem Verdauungstraktus einen Umweg darstellt, der die Entstehung unwirksamer Verbindungen leichter ermöglicht.

Es soll dabei noch hervorgehoben werden, daß schon D y c k e r h o f f und G o o s s e n s 1939 (49) ein Absinken der Blutzuckerwerte nach Applikation seltener Erden beobachtet hatten.

Von all diesen Gedanken ausgehend bestimmten wir bei den mit Nd dauerbehandelten Kaninchen aller 48 Stunden, jeweils vor der Injektion, die Blutzucker- und Pt-Werte. Es war uns nicht möglich, einen echten hypoglykämischen Schock zu beobachten, die Blutzuckerwerte schwankten vielmehr zwischen 65mg% und 90 mg%, waren folglich für das Kaninchen als normal zu bezeichnen. Unserer Meinung nach kann diese Beobachtung dennoch nicht als Gegenbeweis gelten, da die Tiere kurz vor ihrem Tode in einen solchen Zustand gefallen sein könnten, ohne daß dieser von uns beobachtet wurde.

Die Pt-Verminderung dagegen ließ sich schon vom 3. - 4. Tag an eindeutig nachweisen, indem der Pt-Spiegel auf 15 - 25% absank. Urobilin und Uribilinogen konnten wir nicht bestimmen, dagegen fiel auf, daß der Urin in den letzten Lebenstagen eine bierbraune Farbe annahm.

Die durchgeführten Sektionen ergaben ein mit den Resultaten von B a m a n n (35) weitgehend übereinstimmendes Bild. Die Leber wirkte immer blass gelblich mit intensiver Bälkchenzeichnung und war von einer bröckeligen Konsistenz. Veränderungen in der Größe des Organs fielen uns nicht auf. Die

Milz und Niere erschien uns makroskopisch unauffällig und war auch in ihrer Konsistenz nicht verändert.

Die histologischen Schnitte bestätigen diese Befunde.

1.) Kaninchen Nr. 354

- Leber: Im HE-Schnitt hochgradige Parenchymzellnekrosen mit Freibleiben der peripheren Läppchenanteile. Mittel- bis großtropfige Verfettung der nekrotischen Leberzellen, vorwiegend in intermediären Abschnitten.
- Milz: Keine Zellnekrosen, mäßige Fibroadenie der Follikel. Ablagerungen eines gelbgrünen Pigmentes, größtenteils in den Retikulumzellen der roten und weißen Pulpa.
- Niere: Schwellung, vorwiegend der Hauptstückepithelien. Fädige, teils schollige Eiweißmassen in den Tubulusvolumina; eindeutig nephrotischer Einschlag. Mehrfach Untergänge von Tubulusepithelien. Glomeruli nur mäßig durchblutet. Bräunliche (spezifische) Pigmentablagerungen im Bereich der Epithelien der Henle-Schleifen.
- Weiterer Leberschnitt: Ähnliche Veränderungen, wie bereits beschrieben. Auffallende Totalnekrose eines Glisson'schen Feldes mit den gesamten Gefäßwänden (im van Gieson bestätigt).
- Lunge: Hochgradige Hyperämie sämtlicher Gefäße, die in den subpleuralen Kapillaren so hochgradig ist, daß teilweise der Eindruck von Atelektasen entsteht.

2.) Kaninchen Nr. 364

- Niere: Hochgradige kapilläre und venöse Hyperämie; kapilläre Hyperämie vorwiegend in der Rinden-Markgrenze. Schwellung der Tubulusepithelien. Die Tubuluslumina zeigen fädige Eiweißgerinnsel. Vereinzelte Epithelnekrosen. Reichliche Kernpyknoten, vor allem im Bereich der Sammelkanälchen. Ablagerung eines fein- bis mittelkörnigen, teils etwas vakuolären Pigments in den Hauptstückepithelien, und zwar mehr basalwärts gelegen. Gleichartige, aber fast nur feinkörnige Ablagerungen in den Kapillarschlingen zahlreicher Glomeruli.
- Leber: Kapilläre Hyperämie. Ausgedehnte degenerative Parenchymzellveränderungen mit Kernpyknosen, Kariorexesis und Kariolyse,

bis zur Nekrose. Keine sicheren Ablagerungen feststellbar.

Lunge: Hochgradige Hyperämie.

Weiterer Leberschnitt: Wesentlich stärkere Veränderungen mit ausgedehntem Parenchymzelluntergang. Fast keine mesenchymale Reaktion. Feinkörnige bräunliche Ablagerungen in untergegangenen, bzw. untergehenden Parenchymzellen.

3.) Kaninchen Nr. 350

Milz: Mäßige Hyperämie. Sehr ausgedehnte Ablagerungen eines fein bis mittelkörnigen wabigen braungrünen Pigments in den Reticulumzellen der roten Pulpa. Spezifisches Pigment (?). Teilweise läßt sich das Pigment nicht näher lokalisieren.

Leber: Schwerste Veränderungen im Sinne von Kaninchen Nr. 354. Aktivierung und Vermehrung der Mesenchymzellen im Nekrosebereich. Wird im van Gieson bestätigt.

Sudan; ausgedehnte fein- mitteltropfige Verfettung der untergegangenen, bzw. untergehenden Parenchymzellen, wobei die erhaltenen schmalen peripheren Läppchenabschnitte von der Verfettung ziemlich frei bleiben. (zentrale degenerativ-toxische Verfettung).

Weiterer Leberschnitt: Zeigt Hämorrhagien innerhalb einzelner Glisson-scher Felder mit Übergreifen in die Nachbarschaft (Schnitt 350 IV).

Niere: Starke Schwellung der Tubulusepithelien, besonders der Hauptstücke (fädige Eiweißgerinnsel in den Lumina). Cytoplasma der Tubuli zeigt teilweise wabigen Charakter. Mehrfach Untergang von Tubulusepithelien. An einzelnen Stellen wieder die beschriebenen Pigmentablagerungen. Markkanälchen zeigen mehrfach kleinere hyaline Zylinder.

Nach eingehender Prüfung all dieser Ergebnisse erschien es uns wichtig, eine ähnlich geartete Untersuchung auch bei dem mit einer neuen Charge hergestellten Thrombodium vorzunehmen. Dazu kommt, daß die Nd-Konzentration des Präparates von 25 mg Nd-Ion/ccm auf 22,5 mg Nd-Ion/ccm herabgesetzt wurde.

So behandelten wir 9 Kaninchen über einen Zeitraum von 4 - 6 Wochen mit Nd.

Die Kaninchen waren in 3 gleiche Gruppen eingeteilt. Gruppe I wurde täglich 5 mg/kg Nd-Ion, Gruppe II 10 mg/kg Nd-Ion und Gruppe III 30 mg/kg Nd-Ion injiziert.

Nach einem Monat wurde von jeder Gruppe ein Tier getötet und histologische Organanschnitte angefertigt.

Das Tier der Gruppe I hatte somit insgesamt 20,1 ccm Thrombocyten (entspricht 452,25 mg Nd-Ion), das der Gruppe II 42,91 (entspricht 965,47 mg Nd-Ion) und das der Gruppe III 58,24 ccm (entspricht 1310,4 mg Nd-Ion) erhalten.

Aus technischen Gründen (unterschiedliche Ohrverhältnisse) konnte die Injektion nicht immer täglich regelmäßig geschehen, so daß geringfügige Schwankungen beim Vergleich der injizierten Gesamtmengen, bezogen auf die Versuchszeit, auftreten.

Nach weiteren 3 Wochen wurde wiederum 1 Tier pro Gruppe getötet, um sich eventueller histologischer Veränderungen zu vergewissern.

Das Tier der Gruppe I hatte insgesamt 48,97 ccm Thrombocyten (entspricht 1101,83 mg Nd-Ion), der Gruppe II 76,64 ccm (entspricht 1724,4 mg Nd-Ion) und der Gruppe III 132,01 ccm (entspricht 2992,73 mg Nd-Ion) erhalten. Von diesem Zeitpunkt an wurde kein Thrombocyten mehr injiziert und die letzten 3 Tiere wurden nach weiteren 3 Monaten getötet. Die ihnen injizierte Menge von Thrombocyten belief sich bei dem Tier der Gruppe I auf 31,64 ccm Thrombocyten (entspricht 711,9 mg Nd-Ion), der Gruppe II auf 81,0 ccm (entspricht 1822,5 mg Nd-Ion) und bei dem Tier der Gruppe III auf 166,6 ccm (entspricht 3748,50 mg Nd-Ion).

Während der Versuchsreihe wurde von allen Tieren wöchentlich der Pt-, Rec-, Fibrinogen- und Thrombocytenwert bestimmt.

Bei einem Pt-O-Wert von 8"-10" bei den unbehandelten Tieren fanden wir während der Dauer der Injektionen bei laufenden Kontrollen Schwankungen zwischen 7,5" und 10,5" bei Abnahme 24 h nach der letzten Injektion. Die O-Werte der Rec-Zeiten beliefen sich auf 100"-125", die späteren Schwankungen zwischen 100" und 140". Die Pt- und Rec-Zeit wiesen demnach keine signifikante Veränderung 24 Stunden nach den Injektionen auf. Beim Fibrinogen erhielten wir schon im O-Wert Differenzen von 250 mg% - 500 mg%. Während der Versuchsreihe gingen die Werte im Durchschnitt etwas hinauf,

wenngleich die Schwankungen erfahrungsgemäß gerade bei Fibrinogen immer erhebliche sind.

Die O-Werte der Thrombocyten beliefen sich auf 200 - 300.000. In den ersten 14 Tagen der Versuchsreihe erhöhten sie sich um ein Geringes, um am Ende wieder ungefähr den Stand des O-Wertes zu erreichen. Allgemein kann gesagt werden, daß sowohl die Pt- und Rec-Zeiten, als auch die Thrombocyten- und Fibrinogenwerte sich innerhalb der physiologischen Schwankungsbreite bewegten.

Die Gewichte der Tiere, die wöchentlich überprüft wurden, stiegen im allgemeinen leicht an. Der Allgemeinzustand der Tiere war gut, der Appetit sehr gut.

Die histologischen Schnitte ergaben folgende Befunde.

1.) Kaninchen Nr. 409

Leber: In größerer Anzahl mehrkernige Riesenzellen ohne sicheren Inhalt. Schwellung der Parenchymzellen an der Peripherie. Körniges bis feinscholliges bräunliches Pigment in den Sternzellen. Eosinophile in den Kapillaren scheinen etwas reichlich.

2.) Kaninchen Nr. 405

Milz: Zahlreiche mehrkernige Riesenzellen in ungleichmäßiger Verteilung. Zahlreiche eosinophile Leukocyten, vorwiegend in der Pulpa.

Leber: In größerer Anzahl Riesenzellen, vereinzelt mit einem feinkörnigen bräunlichem Pigment. Schwellung an der Peripherie.

3.) Kaninchen Nr. 106

Milz: In der Milz zahlreiche Riesenzellen mit Hämosiderinpigment (?). Nur wenige der bereits erwähnten Riesenzellen.

Leber: Riesenzellen. Schwellung an der Läppchenperipherie. Schwellung der Sternzellen.

4.) Kaninchen Nr. 416

Leber: Sehr zahlreiche Riesenzellen, vielfach mit scholligem, auch feinkörnigem Pigment. Dieses auch teilweise in den Parenchym-

zellen. Parenchymzellen stark gequollen, Protoplasma stark vakuolär (Fett ?, hydropisch ?). Das periphere Bindegewebe in Form schmaler Stränge verbreitert, rundzellig infiltriert. Kerne nicht verändert.

Milz: Sehr zahlreiche Riesenzellen, teils mit scholligem braunen Pigment, in geringerer Anzahl ohne nachweisbares Pigment, bzw. mit geringen feinkörnigen Einlagerungen wie in Leber Nr. 405.

5.) Kaninchen Nr. 411

Leber: Riesenzellen in größerer Anzahl. Schwellung an der Peripherie. Vereinzelt feinkörniges Pigment in den Riesenzellen.

Milz: Ungeheuer zahlreiche Riesenzellen, intrasinuös gelagert, kein sicher nachweisbares Pigment enthaltend. Eosinophilie etwas geringer ausgeprägt.

6.) Kaninchen Nr. 417

Leber: Sehr zahlreiche Riesenzellen mit reichlich schwarzem bis schwarz-bräunlichem, körnigen bis feinscholligem Pigment. Dieses auch (in wesentlich geringerer Dichte) in vielen Parenchymzellen in allen Läppchenabschnitten.

Milz: Sehr zahlreiche Riesenzellen mit reichlich schwarzem bis dunkelbraunem Pigment. Auch in den Retikulumzellen vielfach das gleiche Pigment.

7. Kaninchen Nr. 413

Milz: Riesenzellen in großer Anzahl mit nur geringen, selten auch mäßigen Pigmenteinlagerungen. Auch in den Retikulumzellen immer wieder geringe bis mäßige Pigmenteinlagerungen.

Leber: Riesenzellen in mäßiger Anzahl mit wenig Pigment. Parenchymzellen bis auf einen schmalen Saum an der Läppchenperipherie gequollen (hydropisch ?, Fett ?). Glisson'sches Bindegewebe in Form schmaler Stränge verbreitert.

8.) Kaninchen Nr. 414

Milz: In größerer Anzahl Riesenzellen mit braunem Pigment, daneben auch mehrfach in den Retikulumzellen dunkelbraun-schwärzliches Pigment.

Gleichartige Befunde bei allen Versuchstieren:

In allen Gewebsschnitten findet sich eine deutliche Eosinophilie.

In allen Nieren Schwellung der Hauptstückepithelien. Außerdem in mäßiger Anzahl feine dunkelbraune Granula dortselbst.

Die Kaninchen Nr. 409, 106 und 414 erhielten 5 mg Nd-Ion/kg, Nr. 405 und 413 10 mg/kg Nd-Ion und Nr. 411, 416 und 417 je 30 mg/kg Nd-Ion.

Bewertung aller Ergebnisse:

Auf Grund der vorhandenen Ergebnisse scheint uns ein endgültiges Urteil über die Toxizität der seltenen Erden noch nicht zu verantworten. Zweifellos ist die Wirkung auf Leber und Milz eine erhebliche, so daß wir davor warnen möchten, die Präparate der seltenen Erden längere Zeit zur Anwendung zu bringen. In einer Gabe bei Beginn einer Dicumarolbehandlung etwa kann wohl keine Gefahr gesehen werden. Es soll aber nochmals daran erinnert werden, daß, wie oben bereits angeführt, 3 - 5 Stunden post injectionen der heute üblichen Dosis von 250 mg Nd-Ion der Pt-Spiegel schon wieder über 45% angestiegen ist und somit eine neuerliche Gabe notwendig wäre. Aber schon einer solchen Behandlung über vielleicht 2 Tage hinweg (was ca 10 Injektionen oder 2500 mg Nd-Ion entsprechen würde) sollte nur in wirklich indizierten Fällen die Zustimmung gegeben, bei einem Leberschaden von einer Applikation aber abgesehen werden.

Experimenteller Teil

Angewandte Lösungen und Substanzen

1.) Thrombodium

Die farblose Flüssigkeit enthält das Neodymsalz der 3-sulfo-isonikotinsäure (Neodym-sulfo-isonikotinat) in wässriger neutraler Form. Es wird in 2,5%iger steriler, isotonischer Lösung in Ampullen geliefert.

2.) Natr. citr. 3,8%ig

3.) Natr. oxalat 1,34%ig

4.) Calc. Chlorad 0,6%ig

5.) Trockenthrombokinese aus Kaninchenhirn

6.) Thromboplastinlösung "Roche"

7.) Methylalkohol

8.) Aceton

9.) Aether, wasserfrei.

Angewandte Methoden

1.) Blutabnahme

Aus der mittels Xylolalkohol erweiterten Ohrvene des Kaninchens wurden in Vorlage von 0,2 ccm Na-Citrat 0,8 ccm Blut entnommen und der Spritzeninhalt gut durchmischt. Bei den Abnahmen mit Na-Oxalat war das Verhältnis 0,1 zu 0,9 ccm Blut. Bei beiden Methoden war besonders darauf zu achten, daß die Entnahme zügig und ohne Luftansaugung erfolgte. Bei Venenkrampf oder Wandbeschädigung bestand die Gefahr, daß Gewebs-Thrombokinese ausgesaugt wurde und durch Thrombocytenzerstörung eine Voraktivierung, d.h. Aktivierung der Blut-Thrombokinese herbeigeführt wurde. Luftblasen führen zu Ungenauigkeiten im Mengenverhältnis, was sich ungünstig auf das Bestimmungsergebnis auswirkt. (Marbet-Winterstein, 39)

Wir verwandten für alle Untersuchungen Citrat-, bzw. Oxalat-Vollblut und vernachlässigten dabei den Fehler, der durch verschiedene Hämatokritwerte entsteht. H a l s e (40) mißt diesem Fehler nur im Falle einer Anämie oder Polyglobulie Gewicht bei, nicht aber im physiologischen Schwankungsbereich. Auf der anderen Seite hielten wir es für

wichtig, die Gerinnungsverhältnisse durch sparsame Blutentnahme nicht zu verändern. Somit reichte 1 ccm Blut für 3 Pt- und 3 Rec-Zeit-Bestimmungen.

2.) Prothrombinzeitbestimmung nach Quick, Modifikation M a r x - B a y e r l e (41)

0,1 ccm des gut gemischten Citrat- oder Oxalatblutes werden 3 Minuten auf 37° erwärmt, dazu 0,2 ccm des ebenfalls vorgewärmten Tpl-CaCl₂-Gemisches gegeben und die Stoppuhr in Gang gesetzt. In rhythmischen Abständen (ca 1 sec.) wird das Substrat mittels einer Drahtöse durchmischt, bis ein Gerinnsel hängen bleibt und somit die Pt-Zeit bestimmt ist. Dabei muß man sich darüber klar sein, daß bei dieser Methode nicht nur die Änderungen des Prothrombins allein sondern vielmehr diejenigen am sogenannten Prothrombinkomplex, der sich außer dem Prothrombin noch aus Faktor V und VII zusammensetzt, gemessen werden.

Für das Tpl wurde eine Verdünnungseichkurve angelegt, d.h. aus 7 Tieren gewonnenes Kaninchen-Mischblut wurde mit physiol. NaCl-Lösung auf 70% - 5% verdünnt und die Pt-Zeit gemessen.

In den hohen Verdünnungen (unter 20%) ist besonders im Vollblut die exakte Feststellung des Gerinnungseintrittes etwas erschwert, da keine massive Gerinnselbildung mehr erfolgt, sondern nur noch eine mehr oder weniger massive Ausflockung auftritt. Die Eichkurve wurde als Mittelwertskurve von 7 Bestimmungen angelegt. Die in den Versuchen jeweils ermittelten Pt-Zeiten wurden anhand der Kurve den entsprechenden Pt-Werten in % zugeordnet.

Der täglichen Pt-Bestimmung an den Versuchstieren ging eine Kontrolle des Tpl-Gemisches am unverdünnten Kaninchen-Mischblut voraus, um Aktivitätsschwankungen des Tpl sichtbar zu machen.

Bei allen Bestimmungen wurde Thromboplastin "Roche" verwandt, eine durch Phenol- und Gelatinezusatz stabilisierte Tpl-Lösung, die auch nach längerer Erwärmung kaum Aktivitätsschwankungen zeigt.

3.) Rekalzifizierungszeit nach H o w e l l (42)

Modifikation nach H a l s e (43)

Zu 0,2 ccm auf gleiche Weise wie zur Pt-Bestimmung gewonnenen

Citrat- (Oxalat-) Blutes werden 0,2 ccm CaCl_2 -Lösung gegeben und die Zeit bis zum Auftreten der Gerinnelbildung gestoppt. Dabei ist zu beachten, daß G o o s s e n s und D ü r r (44) bei 65 Doppelbestimmungen eines von 3 Tieren stammenden Blutes Streuungen der Rec-Zeit-Bestimmung von plus-minus 4,7% beobachtet haben. Dazu kommt der Abnahmefehler bei mehrfacher Abnahme, so daß mit einer Gesamtstreuung von etwa plus-minus 15% gerechnet werden muß.

4.) Calciumzusatz des Blutes

Von 4 ccm Oxalatblut werden 2 ccm mit 0,4 ccm einer 0,6%igen CaCl_2 -Lösung versetzt, gut durchmischt und die Pt- und Rec-Zeit-Bestimmung in der oben beschriebenen Weise durchgeführt.

5.) Myotoxin-Thrombokinase-Test

a) Herstellung des Trockenmuskels

Einem durch Genickschlag getöteten Kaninchen wird sofort die Rücken- und Beinmuskulatur entfernt, durch den Fleischwolf getrieben und anschließend in die 5 - 7 fache Acetonmenge gebracht. Bis zur Aufnahme des Muskels in das Aceton sollen nicht mehr als 10 Minuten vergehen. Man knetet diese Masse einige Minuten mit Aceton durch, entfernt dieses mit Hilfe eines Haarsiebes, wiederholt den gleichen Vorgang noch zweimal mit Aceton, um anschließend auf Aether überzugehen. Nach der zweimaligen Aetherauswaschung werden die Muskelfasern auf Filterpapier ausgebreitet, wo sie bei Zimmertemperatur schnell trocknen. 100 g des feuchten Muskelbreies ergeben dann ungefähr 20 g Trockenmuskel. Dieser kann beliebig lang unter Luftabschluß aufbewahrt werden.

b) Herstellung des Myotoxins nach der Vorschrift von D y c k e r h o f f, S c h ö r c h e r und T o r r e s (32), Modifikation nach G o o s s e n s : 100 g Trockenmuskel werden 7 Minuten lang bei Zimmertemperatur mit 500 ccm physiol. NaCl-Lösung geschüttelt. Nach Abpressen des Breies durch ein Koliertuch wird filtriert. (Der Rückstand enthält noch etwas Myotoxin, welches man durch Auskochen gewinnen kann.) Das Filtrat wird 6 - 8 Minuten auf der Flamme gekocht, abgekühlt und von dem denaturierten Eiweiß abfiltriert. Man erhält so 280 - 320 ccm einer klaren Lösung, von der 5 - 7 ccm/kg Kaninchen tödlich wirken. Man

fällt nun mit dem dreifachen Volumen Methylalkohol und wäscht in der Zentrifuge je einmal mit Methylalkohol und Aceton, anschließend zweimal mit Aether. Die Substanz verliert den Aether bei Zimmertemperatur rasch. So erhält man endlich 1,3 - 1,5 g eines nicht ganz löslichen Trockenpräparates, welches trocken unbeschränkt haltbar ist.

100 mg/kg Kaninchen sind dabei als LD 100 zu bezeichnen.

Es wird nun 75 ccm physiol. NaCl-Lösung zum kochen gebracht und 1,5 g des Präparates in die kochende Lösung eingeführt. Dies alles kocht 3 Minuten, kühlt, und wird von dem Ungelösten abzentrifugiert. Die klare Lösung wird, wie oben beschrieben, mit Methylalkohol gefällt und mit Aceton, Methylalkohol und Aether ausgewaschen. Auf diese Weise erhält man etwa 1 g Myotoxin. Das Präparat ist leicht in Wasser löslich und kochbeständig. Es ist sehr hygroskopisch und wird deshalb am besten für 2 - 3 Tage in einem gut evakuierten Exsiccator aufbewahrt und anschließend in größeren Portionen eingeschmolzen, wenn möglich im Vakuum. Dabei soll sich möglichst wenig Luftraum über der Substanz befinden. Die an einem Tage benötigten Mengen sind geschlossen abzuwiegen, wobei allzu langer Luftzutritt zu vermeiden ist. Feuchtes Myotoxin oder Myotoxin-Lösung ist ebenso wie Frischmuskel-Extrakt (Frühgift) unbeständig und wird sehr schnell inaktiv.

Die so gewonnenen Myotoxin-Mengen können sich in ihrer Toxizität unterscheiden. Vielleicht spielt hierbei die Qualität des Trockenmuskels eine Rolle. Es wäre denkbar, daß mehrere Monate alter Trockenmuskel weniger aktive Extrakte ergibt.

c) Versuchsanordnung des MTT

Am Beginn des MTT ist die Feststellung der Letaldosen der zu verwendenden Myo- und Tpl-Charge notwendig, da beide Präparate Aktivierungsunterschiede ihrer zu verschiedenen Zeiten gewonnenen Chargen zeigen.

Die LD 100 des Myo lag in unseren Versuchen zwischen 30 und 40 mg/Kg.

Die LD 100 der Tpl "Roche" lag zwischen 0,4 und 0,6 ccm/kg.

Nach Feststellung der einzelnen Letaldosen erfolgt die Testung der Myo-Tpl-Kombination, wobei das Tpl auf ca 2/3 der LD herabgesetzt und, ausgehend von 30% seiner LD, die Myo-Menge variiert wird.

Nach Ermittlung des Schwellenwertes der Kombination (ca 50% der Kontrolltiere erleiden eine tödliche TE) wird die Dosis der beiden Agentien

um ca 20% erhöht, um einen sicher tödlichen Ausgang der Kontrollversuche zu erreichen. (LD 100)

Die Injektionsdauer soll gleichmäßig 20 sec betragen. Bei langsamer Tpl-Injektion (1 ccm/min) fallen kleinste Fibrinflocken aus, das Blut wird in der Gerinnungsfähigkeit herabgesetzt und es tritt keine TE auf. (Jürgens, Studer (45), Goossens und Dirnberger (46)) Im typischen Kontrolltest erleiden die Tiere ca 30 sec nach Injektionsbeginn einen schweren Kollaps mit starker Abdominalatmung, Dyspnoe, meist nehmen sie Seitenlage ein. Nach 60 - 90 sec (wobei diese Zeit bis zu 3 Minuten schwanken kann) beginnt das Tier mit den Vorder- und Hinterläufen zu schlagen, manchmal wahllos in eine Richtung springend. Die Atmung wird schließlich schwächer und nach einigen schnappenden Atemzügen tritt der Tod ein. Wenige Minuten nach dem Tod eines Versuchstieres wurde jede TE autoptisch nachgeprüft. Als typischer Sektionsbefund gilt dabei folgendes: Die rechte Herzkammer und der rechte Vorhof sind mehr oder minder stark mit Thromben gefüllt, die sich in die Aeste der A. pulmonales fortsetzen und oftmals bis in deren kleine Verzweigungen zu verfolgen sind. An der Lungenoberfläche sind hämorrhagische Infarkte bis zur Linsengröße feststellbar. Nach typischem Myo-Tod ist das Herz schlaff, reichlich mit flüssigem Blut gefüllt, wobei meist einige kleine Gerinnsel in ihm nachzuweisen sind.

Zu Figur 1.

Die Figur bringt die Differenz der Pt- und Rec-Werte von Citrat- und Oxalat-Blut zum Ausdruck. Es wurden insgesamt 5 Kaninchen jeweils 10 mg Nd-Ion/kg gespritzt und nach 30 Minuten 2 ccm Citrat- und 2 ccm Oxalatblut abgenommen. Das Blut wurde sofort und nach 90' Stehenlassen bei Zimmertemperatur nochmals bestimmt. Die Figur zeigt die Mittelwerte (jeweils 3 Bestimmungen) der 5 Tiere.

Zu Figur 2.

Die Zeichnung zeigt, inwieweit sich die Pt- und Rec-Zeit durch Stehenlassen bei Zimmertemperatur verändert. Außerdem wird eine 1. Abnahme (30'p. inj.) mit einer 2. Abnahme (90'p. inj.) verglichen, um aufzuzeigen, in welcher Zeit nach der Injektion die Maximalwirkung von Thrombodium eingetreten ist. Hierbei wurden 7 Kaninchen 10 mg Nd-Ion/kg gespritzt, 30' und 90' p. inj.

jeweils Oxalatblut abgenommen und dieses sofort, nach 30', 60' und 120' Stehenlassen bestimmt.

Die Nd-Wirkung läßt bei der 2. Abnahme (90' p. inj.) schon nach. Außerdem werden 60 min nach der Abnahme des Oxalatblutes erheblich niedrigere Pt- und Rec-Zeiten gefunden (Verminderung gegenüber der Sofortbestimmung bis ca 20%). Wir konnten somit die Ergebnisse von Thiess (Verminderung der Pt-Zeit nach 10 Minuten gegenüber der Sofortbestimmung bis zu 60%) nicht wiederholen. Wir möchten vielmehr vorschlagen, die Bestimmung der Pt-Zeit nach Quick ca 60 min nach der Blutabnahme durchzuführen, da nach dieser Zeitspanne die Pt-Werte einigermaßen konstant bleiben. Wiederum wurden die Mittelwerte (jeweils 3 Bestimmungen) der 7 Tiere verwandt.

Zu Figur 3.

Es wird der Einfluß von dem Blute zusätzlich beigegebenem CaCl_2 im Gegensatz zum normalen mit Nd-ion versetzten Oxalatblut auf die Pt- und Rec-Zeit veranschaulicht. Wir spritzten 5 Kaninchen 10 mg Nd-ion/kg, nahmen 30' p. inj. Oxalatblut ab bestimmten es sofort. Anschließend wurde das Blut in 2 gleiche Hälften geteilt (jeweils 2 ccm), zu dem einen Teil 0,4 ccm einer 0,6%igen CaCl_2 -Lösung, zu dem anderen als Volumenausgleich 0,4 ccm aqua dest. gegeben und beide Teile nach 60' und 180' bei Zimmertemperatur erneut bestimmt.

Durch den Ca-Zusatz erfolgt eine Verlängerung um das Vier- Fünffache gegenüber der Kontrolle ohne CaCl_2 . Außerdem bleiben die Werte bei CaCl_2 -Zusatz bis zu einer Zeit von 180' nach der Abnahme außerordentlich konstant. Es wird dies auf die Verschiebung des Reaktionsgleichgewichtes von NdOx zum $\text{Nd} + \text{Ox}$ durch die Ca-Ionen zurückgeführt. Wir sind der Meinung, daß hier vielleicht eine Möglichkeit zu einer exakteren Pt-Zeit-Bestimmung nach Applikation von Thrombodym bei einer entsprechenden Eichkurve besteht. Auch hier wurden die Mittelwerte (jeweils 3 Bestimmungen) der 5 Tiere verwandt.

Zu Figur 4.

Es wird zur Darstellung gebracht, inwieweit die Pt- und Rec-Zeit beim Menschen im Vergleich zum Kaninchen bei jeweils gleicher Gabe Nd-ion/kg beeinflußt wird. Insgesamt erhielten 7 Personen 250 mg Nd-ion, wonach diese Menge jeweils durch das Gewicht (in kg) dividiert und 7 Kaninchen die den

Versuchspersonen entsprechende Menge Nd-Ion/kg injiziert wurde. Das Blut wurde nach 30', 60', 120', 180', 360' und 24 Stunden wiederum untersucht. Die erneute Erhöhung nach 24 Stunden muß an einer größeren Versuchsreihe nachgewiesen werden. Die Differenz der prozentualen Pt-Zeit-Verlängerung bei Mensch und Tier ist nicht signifikant. Aufgrund der geringen mg Nd-Ion/kg Gabe (bei einem Menschen von 70 kg entsprechen 250 mg ungefähr 3,5 mg Nd-Ion/kg) bewegt sich die Rec-Zeit innerhalb der Fehlerbreite des O-Wertes, da sie erfahrungsgemäß erst bei höheren Konzentrationen von Nd-Ion eine Verlängerung aufweist. Wie schon bei Figur 2 ausgeführt, bleiben auch hier die Pt- und Rec-Werte, nachdem sie 60' bei Zimmertemperatur stehen gelassen wurden, ziemlich konstant. Auch hier setzen sich die Verlängerungszeiten aus Mittelwerten (jeweils 3 Bestimmungen) der 7 Versuchspersonen und -tiere zusammen.

Zu Figur 5.

Bei gleicher Problemstellung wie in Figur 4 wird das unterschiedliche Verhalten von Mensch und Tier bei einer in vitro Versuchsanordnung aufgezeigt. Dabei wird auf 4 ccm Menschen-, bzw. Kaninchenblut (es wurden die Mittelwerte (jeweils 3 Bestimmungen) von 7 Versuchspersonen und 7 Kaninchen verwandt) 1 ccm des 1:50 mit aqua dest. verdünnten Thrombodium (entspricht 0,5 mg Nd-Ion) gegeben. Das Blut wird nach 60', 120' und 180' nochmals untersucht. Man findet keine Verminderung des Pt und der Rec-Zeit durch Inkubation bei Zimmertemperatur.

Zu Figur 6.

Absinken der Pt- und Rec-Zeit nach Applikation einer bestimmten Dosis Nd-Ion/kg beim Kaninchen (4 Tiere erhielten je 10 mg Nd-Ion/kg) im Laufe von 12 Stunden. Das Blut wurde 30', 90' und 180', sowie 6, 8 und 12 Stunden p.inj. abgenommen und die Pt- und Rec-Zeiten bestimmt. Die Zeiten setzen sich aus den Mittelwerten (jeweils 3 Bestimmungen) der 4 Kaninchen zusammen.

Zu Figur 7.

Bei gleicher Problemstellung wie in Figur 6 wird das Absinken der Pt- und Rec-Zeit beim Menschen nach einer Gabe von 3,8 mg Nd-Ion/kg an

1 Versuchsperson beobachtet. Das Blut wurde 30', 60', 90', 120', 180' und 270' p. inj. abgenommen und die Pt- und Rec-Zeiten bestimmt. Die Schwankungen der Rec-Werte bewegten sich auch hier wegen der geringen mg Nd-Ion/kg-Gabe innerhalb der methodischen Fehlerbreite.

Zu Figur 8.

Projektion der Resultate des MTT auf eine normale Pt-Verdünnungsseichkurve. Innerhalb des so genannten therapeutischen Pt-Niveaus (gestrichelt) überleben die Versuchstiere (TE-Schutz) bis auf eines (exitus bei 31% Pt) - sogenannter Schwellenwert.

Bei dem durch  hervorgehobenen Tier handelte es sich um eine klinisch schwere Lungenembolie und einen Kollaps, der jedoch überlebt wird. (biologischer Schwellenwert)

Z u s a m m e n f a s s u n g

1. Nach kurzem geschichtlichen Überblick auf die Einführung seltener Erden in die Humanmedizin wird eine Charakterisierung ihrer wesentlichsten Eigenschaften gegeben.
Besondere Berücksichtigung findet dabei das Neodymsalz der 3-sulfo-isonikotinsäure (Thrombodym) und dessen Antiprophibrinolyse-eigenschaft.
2. Dieses Präparat wird auf seine gerinnungshemmende Wirkung mit Hilfe der Prothrombin- und Rekalkifizierungs-Zeit-Verlängerung an Citrat- und Oxalatblut untersucht.
Es zeigt sich, daß eine Verlängerung der Prothrombin- und Rekalkifizierungszeit nach Applikation von Thrombodym nur am Oxalatblut zu erfassen ist.
3. Es wird geprüft, inwieweit sich die Prothrombin- und Rekalkifizierungszeit beim stehen lassen verändert.
Allgemein sinken die Prothrombin-Werte bei Zimmertemperatur im Laufe von 120' um ca 20% ab, wogegen die Rekalkifizierungs-Werte um 33% zurückgehen.
4. Das Absinken der Prothrombin- und Rekalkifizierungs-Zeiten wird auf die Verschiebung des Reaktionsgleichgewichtes vom $\text{Nd} \cdot \text{Ox}$ zum NdOx zurückgeführt. Um mehr Ionen in Lösung zu halten wird einem Teil des Blutes Ca zugesetzt.
Im Verhältnis zum allein mit Nd versehenem Oxalatblut zeigt der mit Ca versetzte Blutanteil eine 4 mal stärkere Prothrombin- und 2,5 mal stärkere Rekalkifizierungs-Zeit-Verlängerung.
5. Um die Möglichkeit der Verwendung beim Kaninchen gewonnener Resultate der Gerinnungsphysiologie auf den Menschen aufzuzeigen, erhalten beide gleiche Dosen von Nd/kg.
Es zeigt sich keine signifikante Differenz der prozentualen Prothrombin-Zeit-Verlängerung bei Mensch und Tier.
Nach in vitro dem Menschen- und Kaninchenblut in gleichen Mengen zugefügtem Nd-Ion dagegen ist die menschliche Prothrombin-Zeit um ca das Doppelte gegenüber derjenigen des Kaninchen verzögert. Die Rekalkifizierungszeit liegt beim Menschen um ca 50% höher.

6. Die Wirkungsdauer der Gerinnungshemmung nach Injektion von Thrombodym i. v. beim Menschen und Kaninchen wird untersucht. Eine Verlängerung der Pt- und Rec-Zeit ist 8 - 12 Stunden p. inj. nicht mehr nachzuweisen.
7. Im Myotoxin-Thrombokinase-Test (G o s s e n s) wird demonstriert, daß für Kaninchen eine Prothrombinsenkung auf 15% - 30% notwendig ist, um einen sicheren Thromboembolieschutz zu gewährleisten. Nach gewährleistetem Schluß, dies durch Dauergaben von Thrombodym (Wirk-samkeit direkt auf die Leber) auch bei einem höheren Prothrombin-Spiegel zu erreichen, ist wegen der Toxizität des Präparates nicht durchführ-bar.
8. Zur Frage der Toxizität des Thrombodym wurden Dauerapplikationen von 5 - 30 mg/kg Versuchstier i. v. über mehrere Tage bis Wochen durchge-führt und die Organe anschließend histologisch untersucht. Es fanden sich bei einem großen Teil der Versuchstiere erhebliche pathologische Veränderungen, besonders am Leberparenchym, sowie auch in der Milz (mit Speicherungserscheinungen?) bei Dosen ab 10 mg/kg Körperge-wicht. Die Toxizität wird durch die katalytische Einwirkung seltener Erden auf die Phosphorsäuren im Sinne von Phosphatasen erklärt. Sie wir-ken dadurch störend auf den Kohlehydrat-Stoffwechsel in der Leber ein, durch deren toxischen Parenchymzelluntergang es bis zum Tode des In-dividuums kommen kann.
9. Für die therapeutische Verwendung von Thrombodym sind unseres Erach-tens Injektionen im Abstand von 5 Stunden erforderlich, um eine aus-reichende Senkung des Pt-Niveaus zu erreichen.
Thrombodyminjektionen als Dauerbehandlung über 2 - 3 Tage hinaus sind wegen der festgestellten Toxizität beim Versuchstier Kaninchen vor weiterer Abklärung beim Menschen nicht ratsam.

Zum Schlusse möchte ich Herrn Prof. Dr. med. habil W. S e i t z und Herrn Priv. -Dozent Dr. med. N. G o o s s e n s von Herzen meinen Dank sagen für die freundliche Überlassung des Themas und die liebenswürde Unterstützung bei der Ausführung der Arbeit.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

2. Frouin, Mercier C.R. Soc. Biol. (Paris) 74, 317
(1913)
3. Gmelin-Kraut : Handbuch der anorganischen Chemie
Bd. 6, 2. Abt. S. 1
(1932)
4. Steidle, H.: Bezüglich der Literatur vgl. Handb.
exper. Pharmakologie, Bd. III, T. 4
S. 2189
5. Guidi, G.: Arch. Internat. Pharmacodynam. 37,
305 (1930)
6. Aiazzi-Mancini, M.: Arch. Fisiol. 25, 257
(1927)
7. Niccolini, P. M.: Arch. Internat. Pharmacodynam. 37,
199 (1930)
8. Niccolini, P. M.: Arch. Internat. Pharmacodynam. 40,
247 (1931)
9. Dyckerhoff, H., Kürten, N. F., Biochem. Zschr. 288, 271
Goossens, N., Miehler, H.: (1936)
10. Vincke, E., Oelkers, H. A.: Arch. exp. Path. Pharak. 187, 594
(1937)
11. Quick, A. J., Stanley-Brown, M., Am. J. med. Sci. 190, 501
Bancroft, F. W.: (1935)
12. Vincke, E., Schmidt, E.: Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.
273, 39 (1942)
13. Fischler, F., Roeckl, K. W.: Arch. exp. Path. Pharmak. 189, 4
(1938)
14. Wöhlisch, E., Diebold, W.: Arch. ges. Physiol. 237, 599
Kinderlein, O.: (1936)

14. Schnitz, H.: Arch. ges. Physiol. 222, 155
(1933)
15. Oelkers, H. A., Vincke, E.: Arch. f. exp. Path. 188, 53
(1938)
16. Vincke, E.: Arch. exp. Path. Pharmac. 204, 497
(1947)
17. Vincke, E., Sucker, E.: Klin. Wschr. 28, 74
(1950)
18. Vincke, E., Sucker, E.: Z. Vitamin-, Hormon- u. Fermentforschung
3, 69 (1950)
19. Thies, H. A., Boecker, D.: Dtsch. med. Wschr. 78, 222
(1953)
20. Hartenbach, W.: Mü. Med. Wschr. 97, 423
(1955)
21. Dyckerhoff, H., Goossens, N.: Zschr. ges. exper. Med. 106, S. 181
(1939)
22. Thies, H. A.: Dtsch. Med. Wschr. 79, 640
(1954)
23. Stewart, C. P. Biochem. J. 22, 559
Percival, G. H.: (1928)
24. Wöhlisch, E., Paschkis, K.: Z. ges. exp. Med. 40, 121
(1924)
25. Thies, H. A., Boecker, D.: Dtsch. Med. Wschr. 79, 222
(1953)
26. Thies, H. A.: Schw. Med. Wschr. 84, 29, 833
(1954)
27. Lass, A., Scharpff, E., Klin. Wschr. 39/40
Wunderlich, K.: (1955)
28. Goossens, N.: Thrombose u. Embolie, 1. Intern. Ta-
gung, Basel, S. 310-327
(1954)

29. Goossens, N.: Über die Prüfung thromboembolieverhütender Mittel. Vortrag a.d.Intern.Tagung für Thrombose u. Embolie, Basel (1954)
30. Lenggenhager, K.: Mitt.Grenzgeb.d.Med.u.Chir. 44, 178 (1935/37)
31. Heidenhaim, R.: Pflügers Arch. 49, 209 (1891)
32. Dyckerhoff, H., Schörcher, F., Biochem. Zschr. 300, 198
Torres, G.: (1939)
33. Greene, H. N.: Lancet 143 (1943)
34. Bielschowsky, P., Lancet 153
Greene, H. N.: (1953)
35. Bamann, E.: Klin. Wschr. 588 (1954)
36. Fischler, F.: Physiol. u. Pathol. d. Leber. 2. Aufl.
S. 70 u. 155 ff. (1925)
37. Bamann, E., Ber. dtsh. chem. Ges. 71, 1711-1980
Meisenheimer, M.: 2086, 2233 (1938)
38. Fischler, F., Roeckl, K. W.: Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak. 189, 1 (1938)
39. Marbet, R., Winterstein, A.: Helv. Physiol. Acta 11, 81 (1953)
40. Halse, T.: 10c. cit. (42) S. 160
41. Marx, R., Bayerle, H.: Zschr. f. physiol. Chem. 238, 243 (1949)
42. Howell, W. H.: Arch. Int. Med. 13, 76 (1914)

43. Halse, T.: Heparin u. Heparinoide, Dicumarol. Verlag S. Hirzel, Zürich-Stuttgart, S. 150 (1950)
44. Goossens, N., Dürr, M.: Über parenterale Blutstillung, 4, 255 (1953)
45. Jürgens, R., Studer, A.: Helv. Physiol. Acta 6, 130 (1948)
46. Goossens, N., Dirnberger, P.: Med. Msschr. 5, 297 (1952)
47. Vincke, E.: Z. physiol. Chem. 272, 65 (1941)
48. Hudemann, S.: Kolloid-Z. 92, 189 (1940)
49. Dyckerhoff, H., Goossens, N.: Zschr. f. exper. Path. u. Therap. Bd. 106, 1 u. 2 (1939)

Lebenslauf

Als Sohn des Postinspektors Karl Minde und seiner Ehefrau Ilse geb. Engelmann aus Leipzig wurde ich, Karl Klaus M i n d e am 27. XII. 1933 in Leipzig geboren.

Von 1940 - 1943 besuchte ich die Volksschule und trat 1943 in den Thomanerchor und damit das Humanistische Gymnasium in der Thomasschule zu Leipzig ein. Dort lebte ich im Internat, welches im Dezember 1943 wegen eines Luftangriffes, der das Haus unbewohnbar machte, nach Grimma in die Fürstenschule verlegt wurde. Nach Kriegsende übersiedelten wir wieder nach Leipzig, woselbst ich 1951 mit dem Abitur meine Schul- und Internatszeit abschloss.

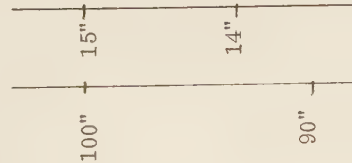
Ich begann im WS 1951/52 das Studium der Medizin an der Universität München. Im Februar 1954 legte ich daselbst mein Physikum ab.

Aufgrund eines Stipendiums war es mir möglich in meinem ersten klinischen Jahr in London am London Hospital Medical College (University of London) zu studieren. Den Rest der klinischen Semester hörte ich an der Universität München.

Im März 1957 möchte ich in München mit dem Staatsexamen beginnen.

O x a l a t		Verläng. in %	C i t r a t	
Pt	Rec		Pt	Rec
+ 90 %	+ 99 %	sofort n. Abnahme	+ 9 %	+ 20 %
+ 81 %	+ 81 %	90' stehen lassen	+ 0,0 %	+ 22 %

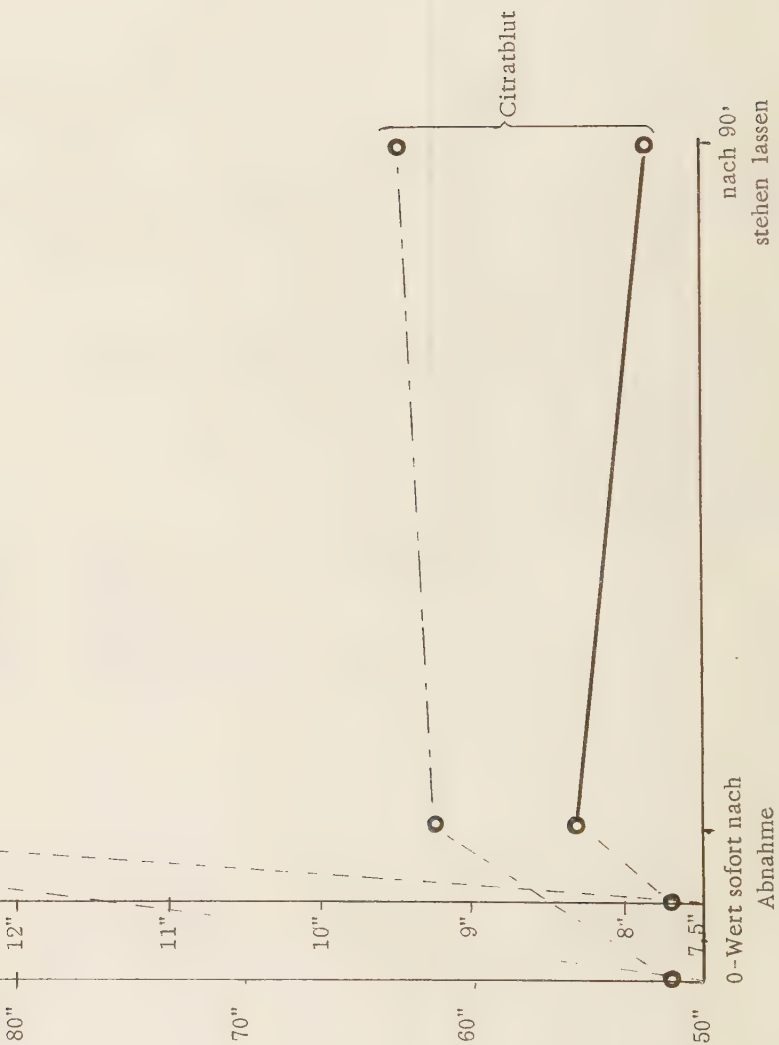
Rec sec Pt sec



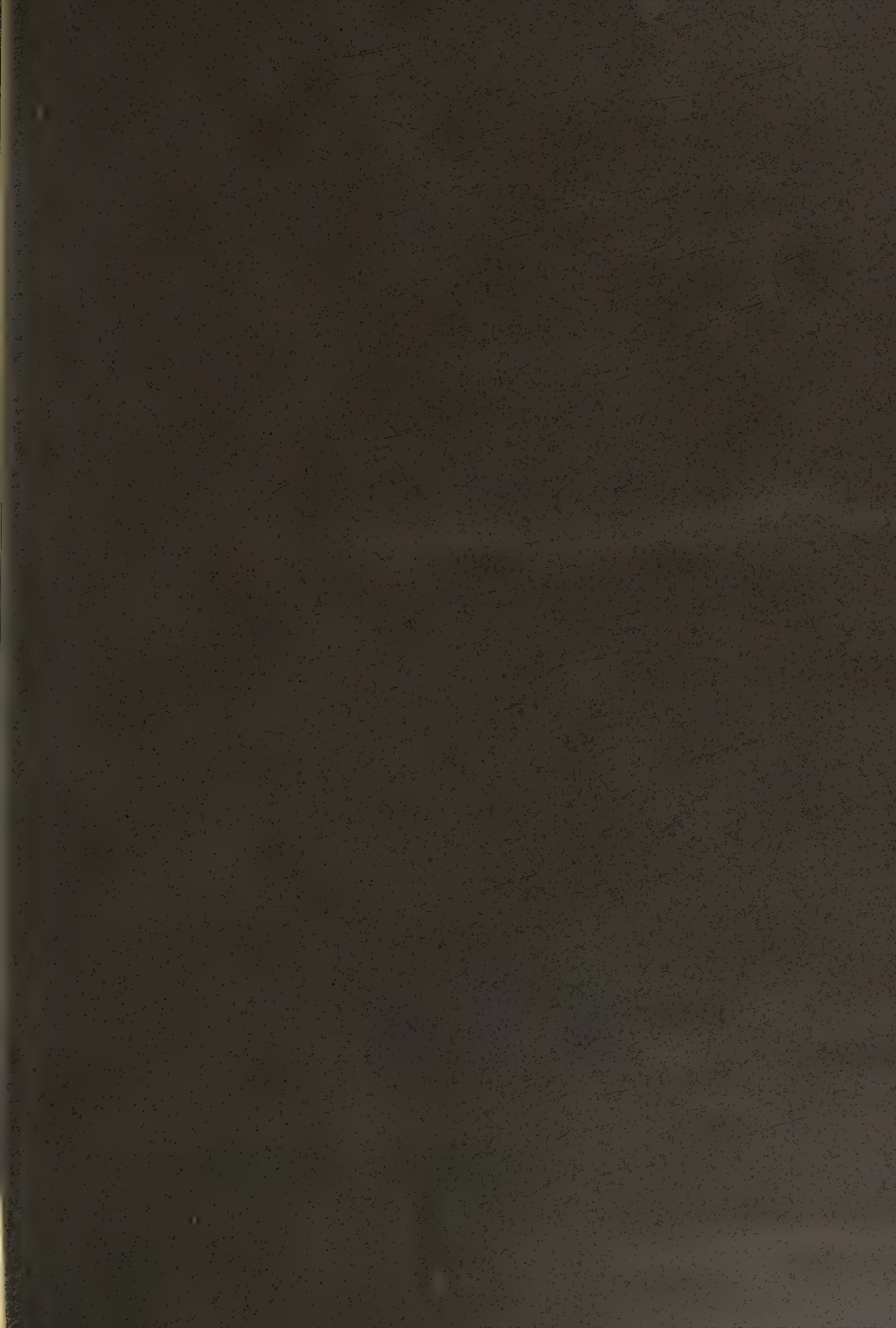
Pt - Zeit =

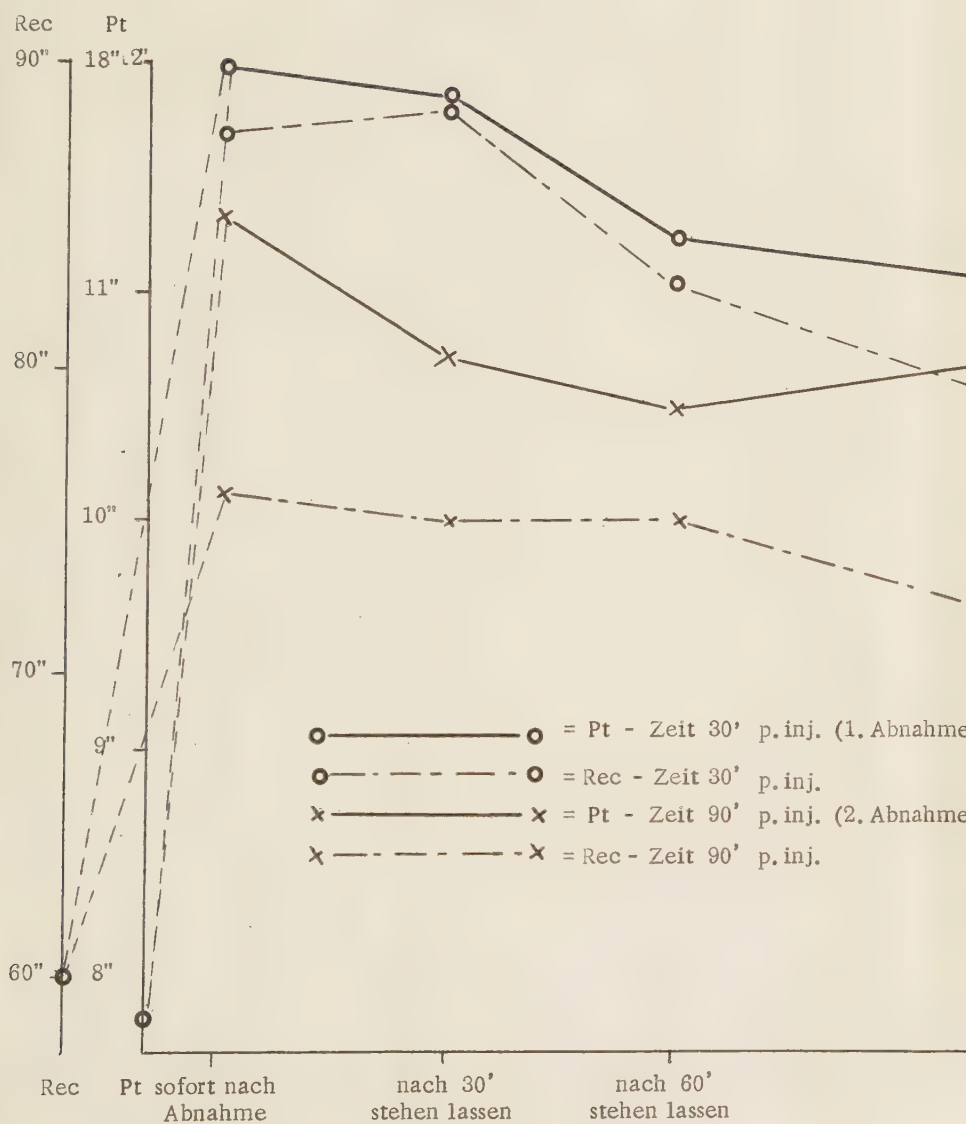
Rec - Zeit =

O xalatblut

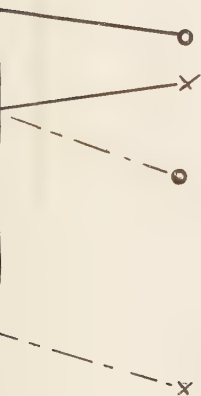


Figur 1





Figur 2

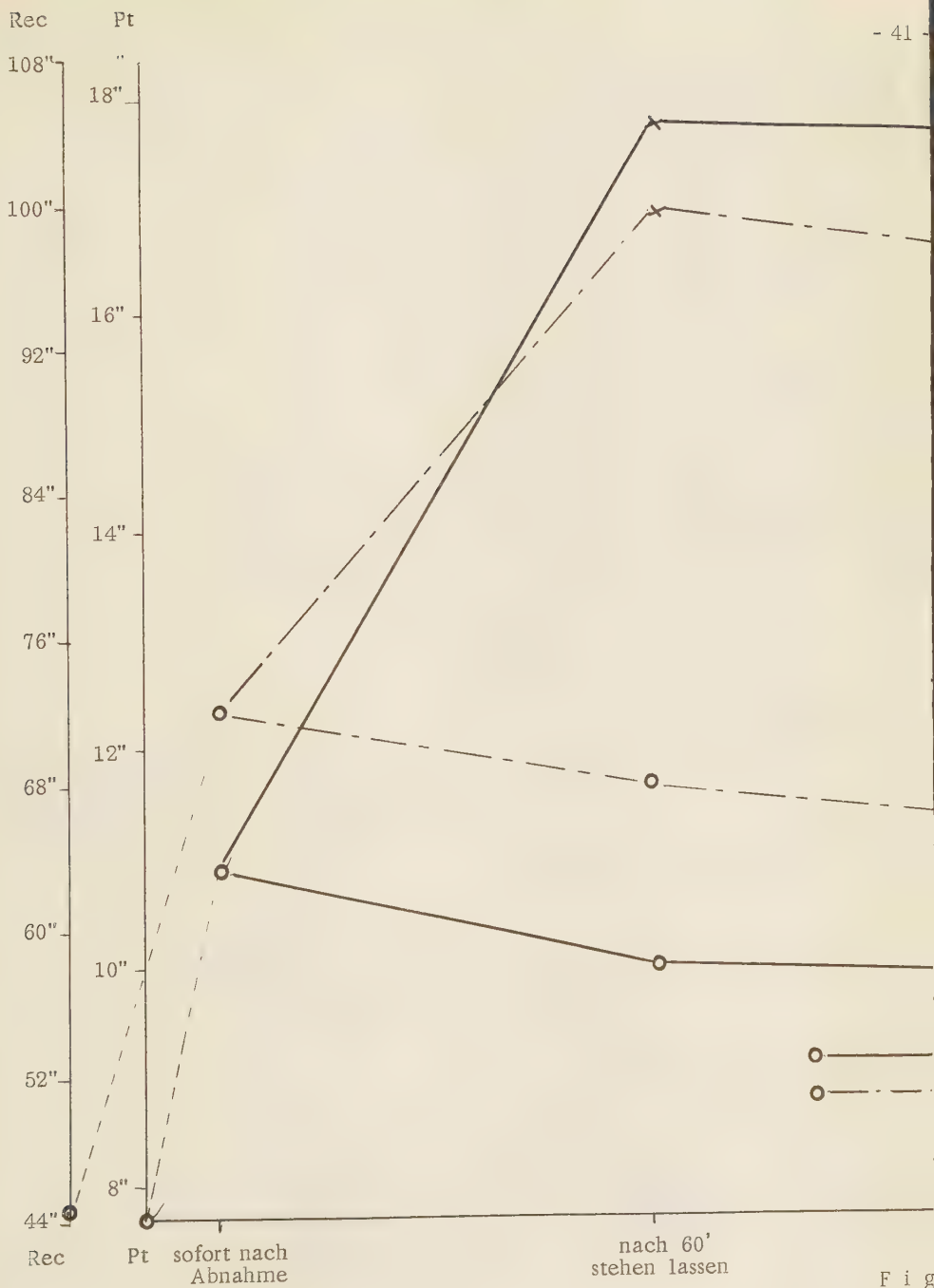


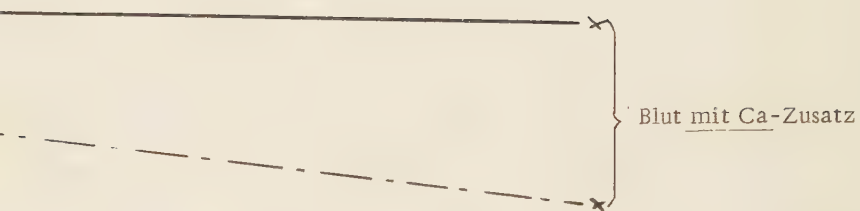
ne)

ne)

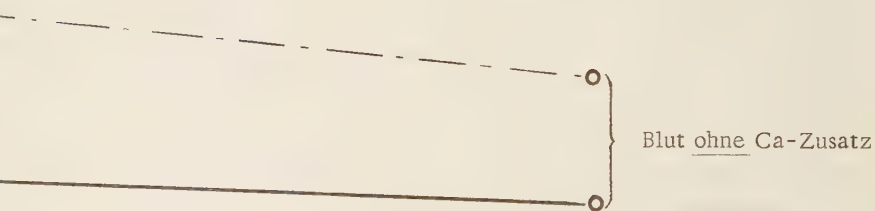
P t		Verlängerung i. %	R e c	
1. Abn.	2. Abn.		1. Abn.	2. Abn.
+ 53 %	+ 44 %	sofort nach Abn.	+ 46 %	+ 27 %
+ 52 %	+ 37 %	30' stehen lassen	+ 48 %	+ 25 %
+ 43 %	+ 35 %	60' stehen lassen	+ 39 %	+ 25 %
+ 41 %	+ 36 %	120' stehen lassen	+ 30 %	+ 18 %

nach 120'
stehen lassen





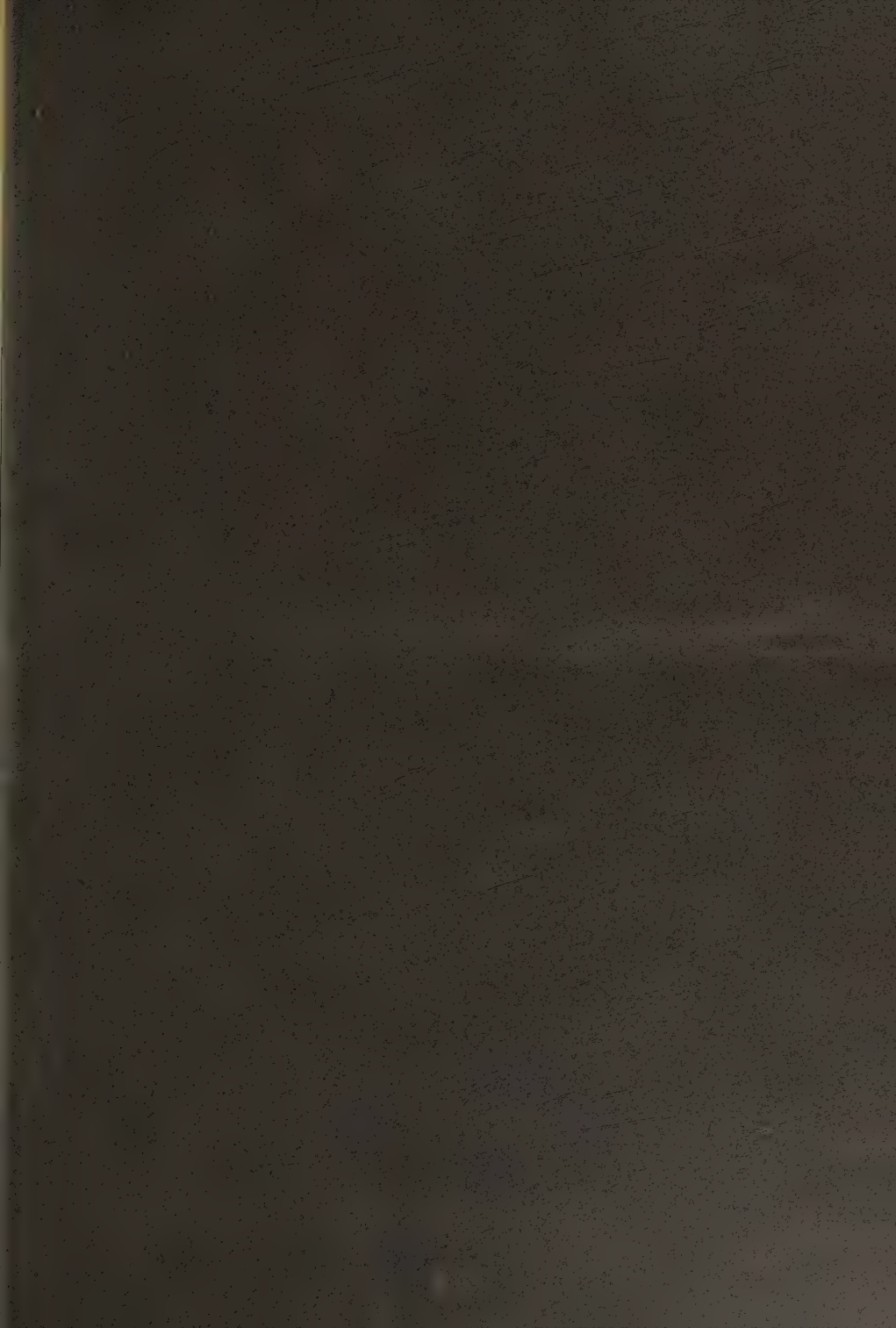
Pt		Verlängerung in ‰	Rec	
- Ca	+ Ca		- Ca	+ Ca
+ 39 ‰	(+ 39 ‰)	sofort nach Abnahme	+ 60 ‰	(+ 60 ‰)
+ 29 ‰	+ 128 ‰	60' stehen lassen	+ 50 ‰	+ 120 ‰
+ 24 ‰	+ 127 ‰	180' stehen lassen	+ 40 ‰	+ 106 ‰

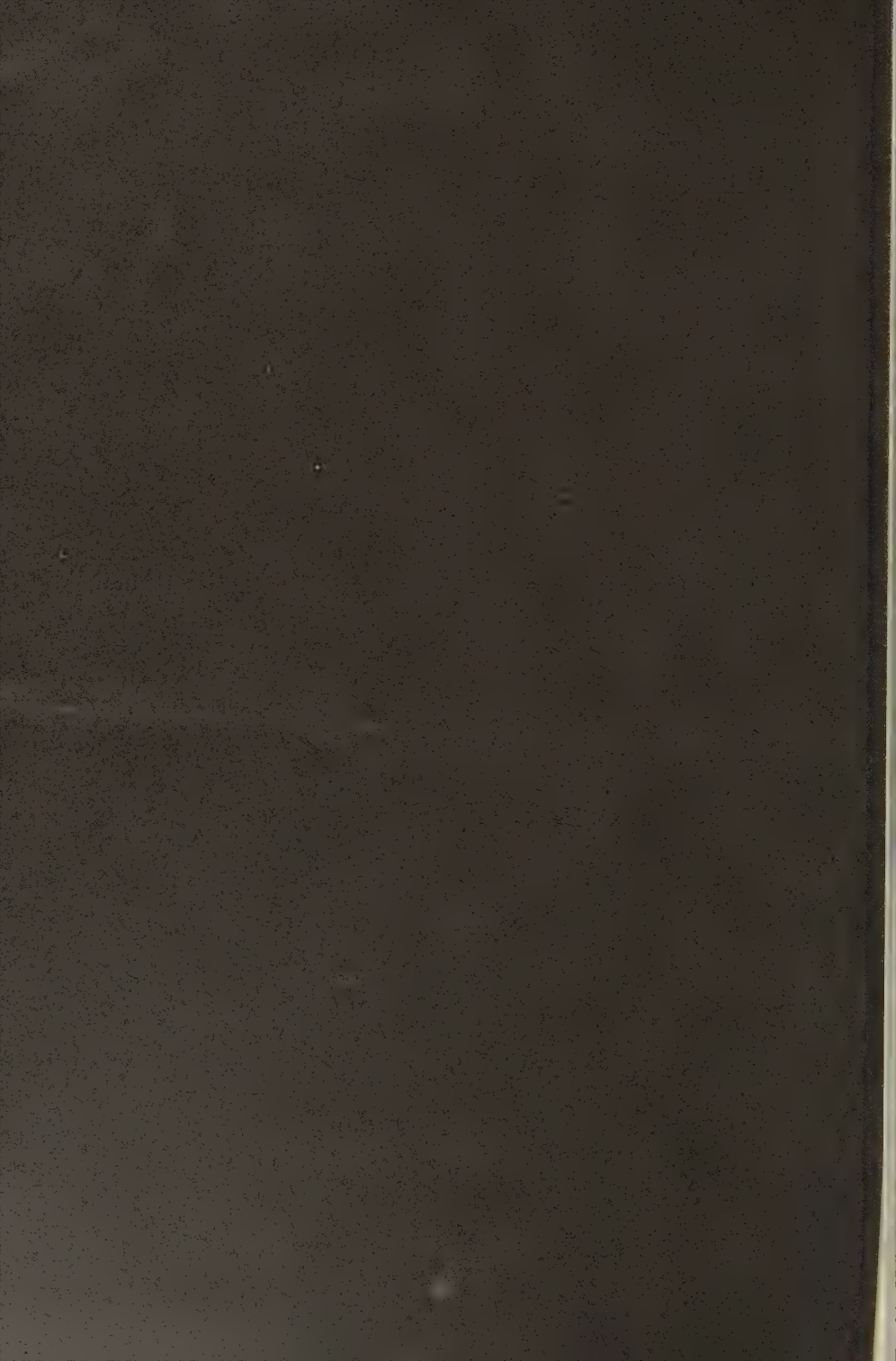


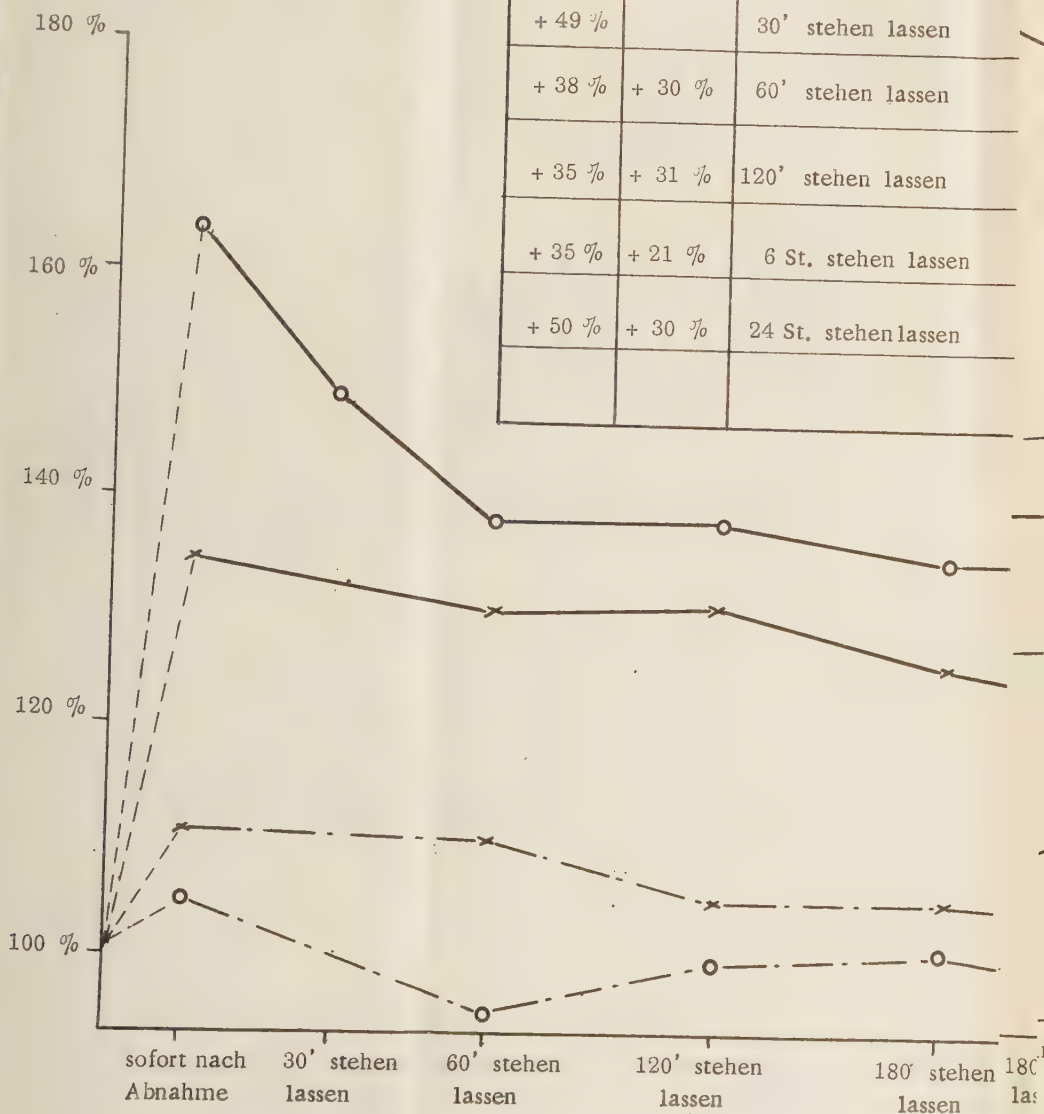
—○ = Pt - Zeit

- -○ = Rec - Zeit

nach 180'
stehen lassen

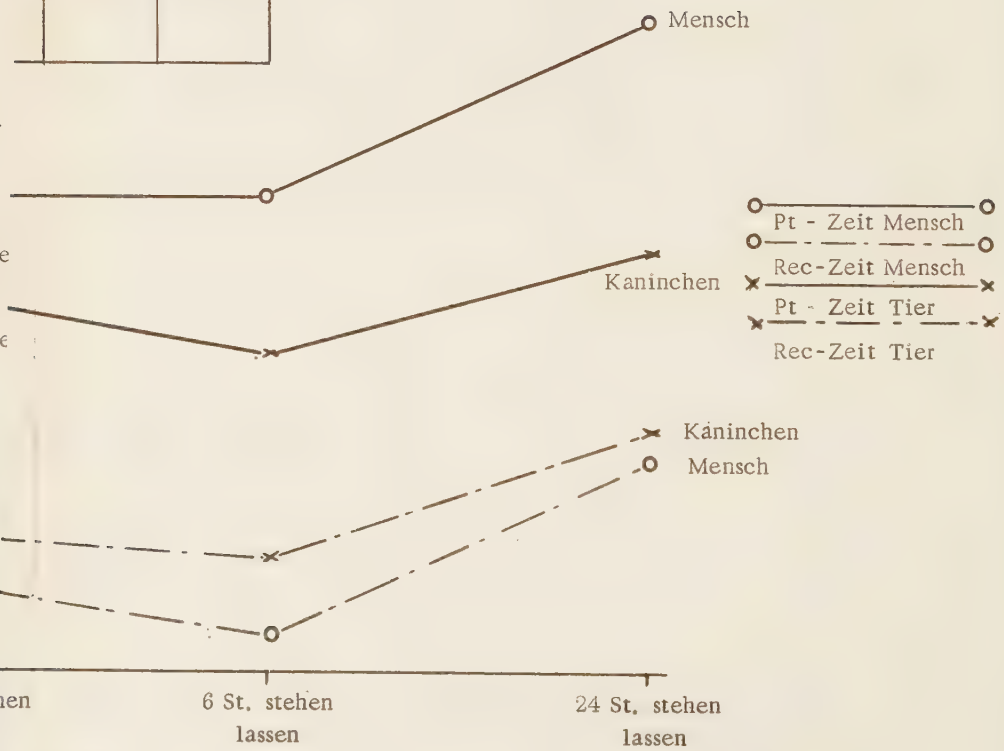




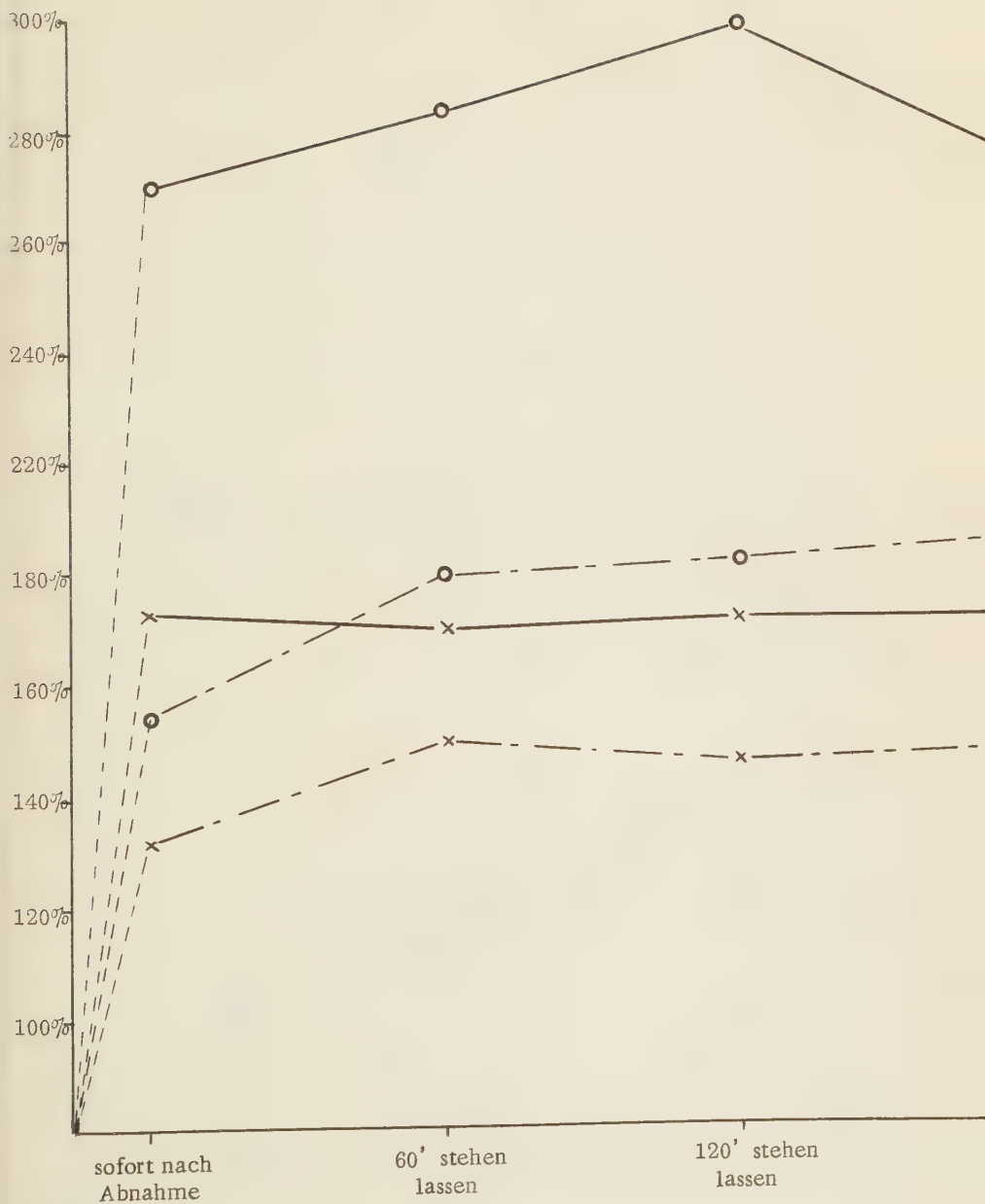


40² -

Rec	
Mensch	Kaninchen
+ 5 ‰	+ 11 ‰
- 5 ‰	+ 10 ‰
- 1 ‰	+ 5 ‰
+ 1 ‰	+ 5 ‰
- 4 ‰	+ 3 ‰
+ 12 ‰	+ 14 ‰



Figur 4



Figur 5

Pt		Verlängerung in %	Rec	
Mensch	Kaninchen		Mensch	Kaninchen
+ 170 ‰	+ 94 ‰	sofort nach Abnahme	+ 75 ‰	+ 52 ‰
+ 185 ‰	+ 91 ‰	60' stehen lassen	+ 100 ‰	+ 70 ‰
+ 200 ‰	+ 93 ‰	120' stehen lassen	+ 103 ‰	+ 65 ‰
+ 175 ‰	+ 93 ‰	180' stehen lassen	+ 106 ‰	+ 68 ‰

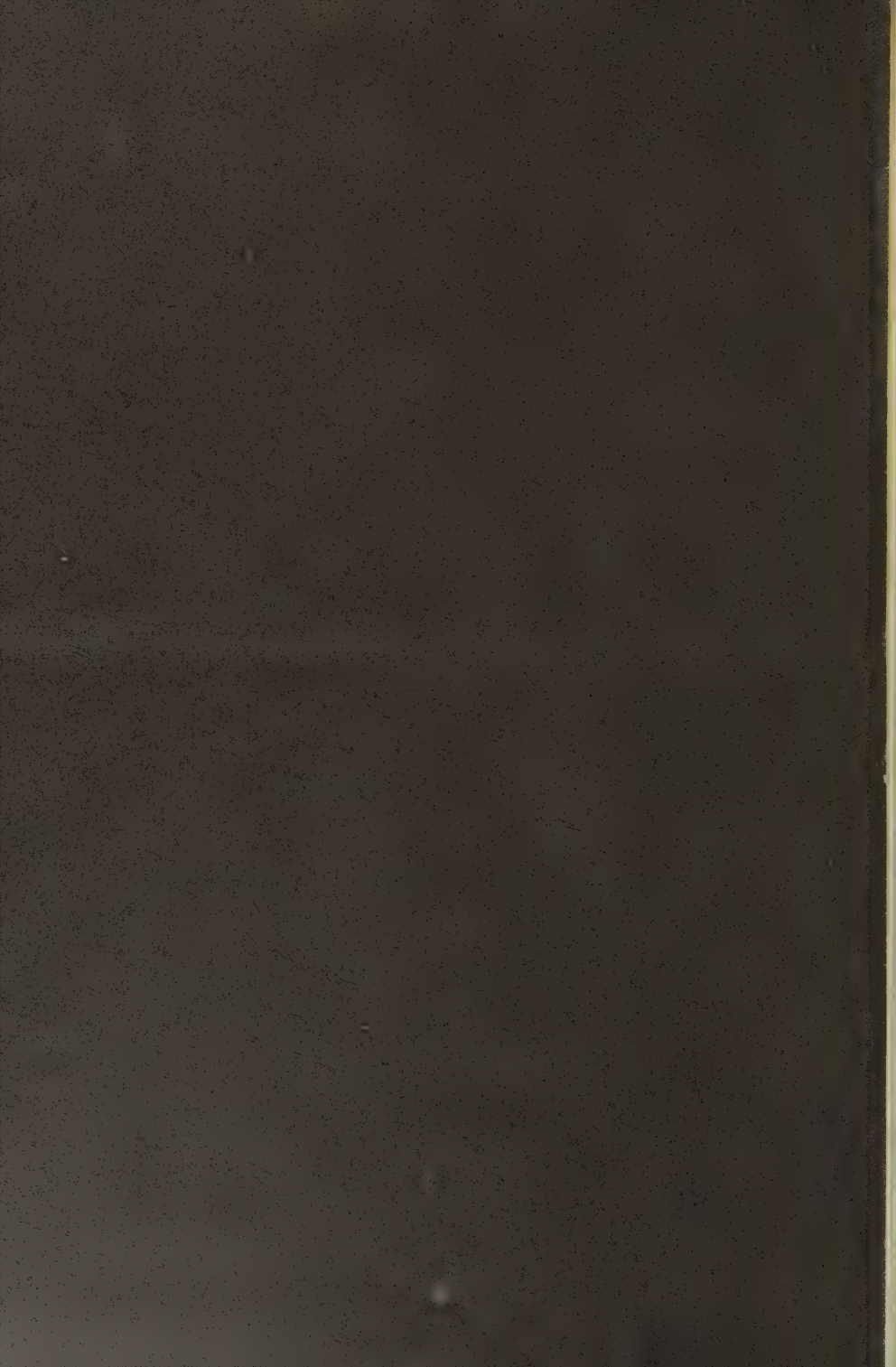
○ ————— ○ = Pt - Zeit Mensch

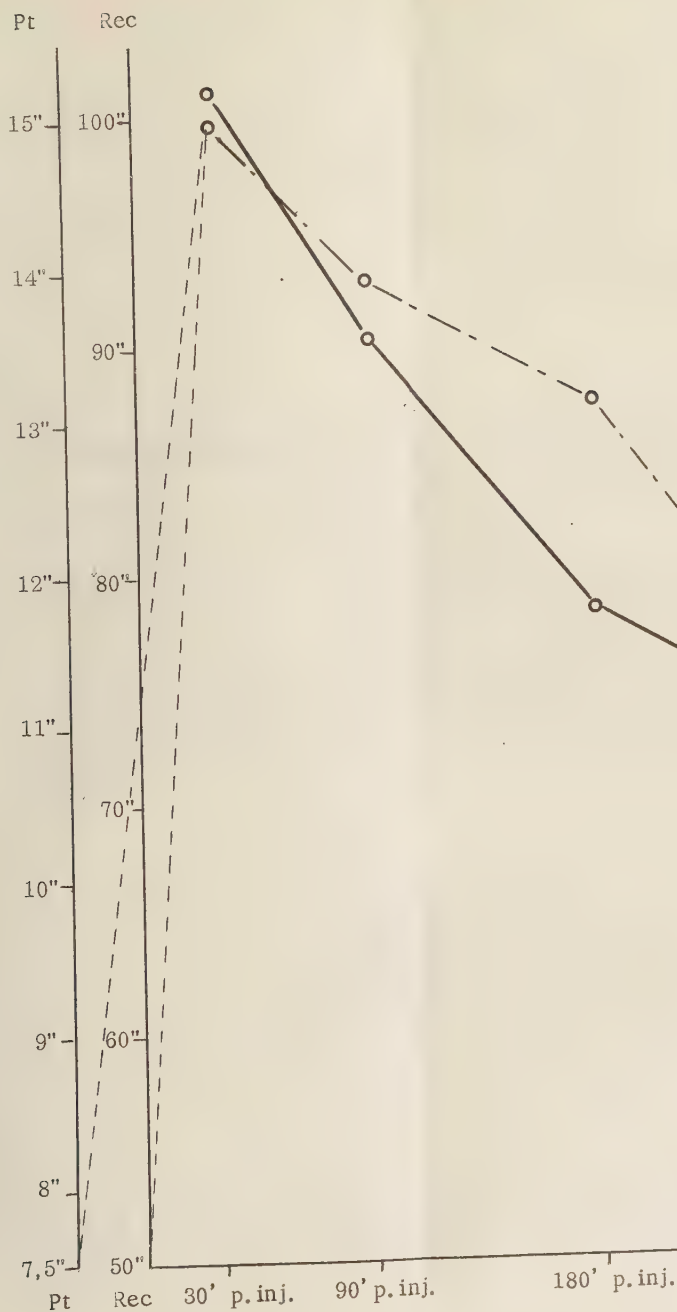
○ - - - - - ○ = Rec-Zeit Mensch

× ————— × = Pt - Zeit Kaninchen

× - - - - - × = Rec-Zeit Kaninchen

stehen
en





F i g u r

42

○ ———— ○ = Pt - Zeit } beim Kaninchen
 ○ - - - - - ○ = Rec-Zeit }

m

r

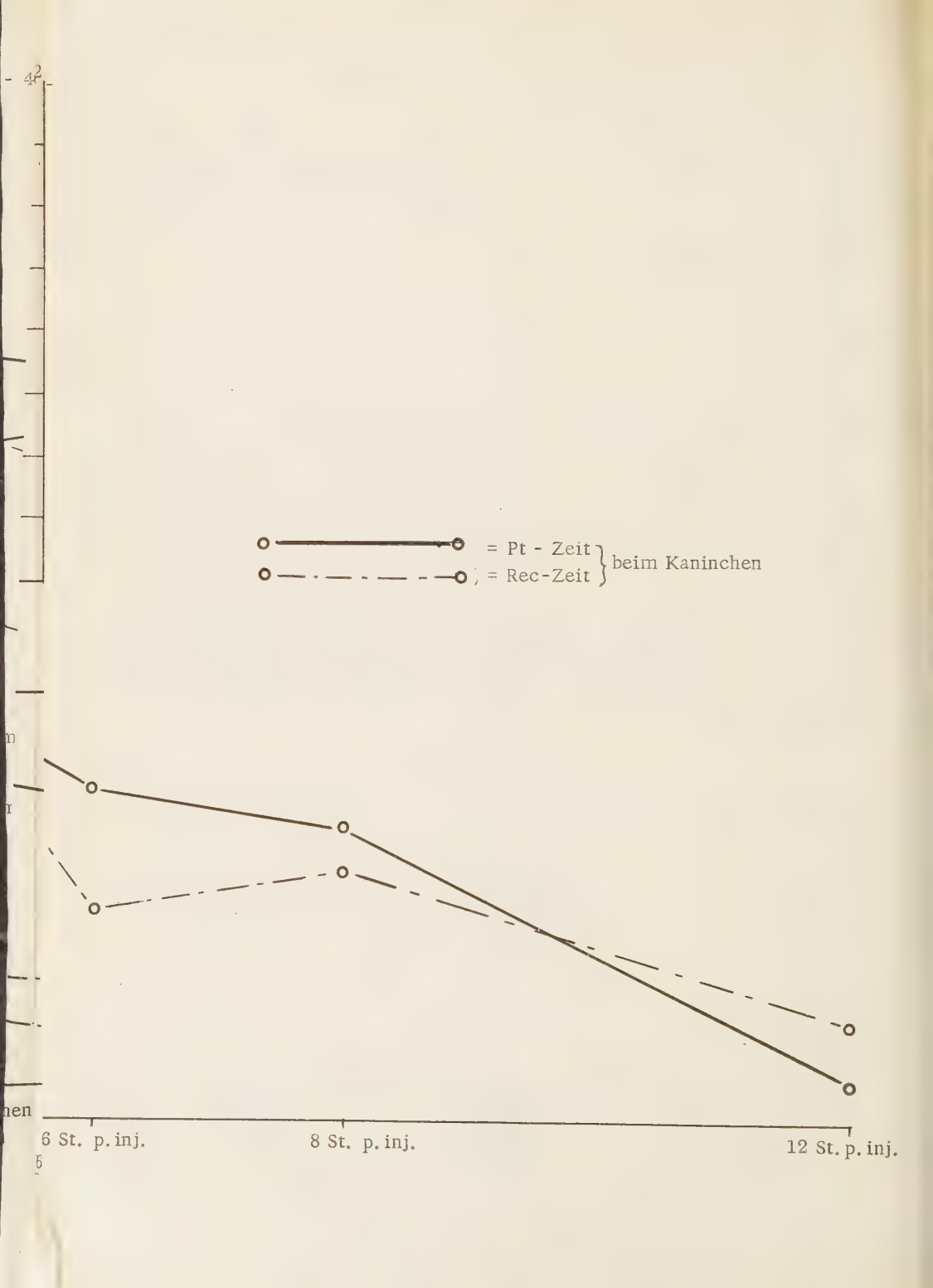
nen

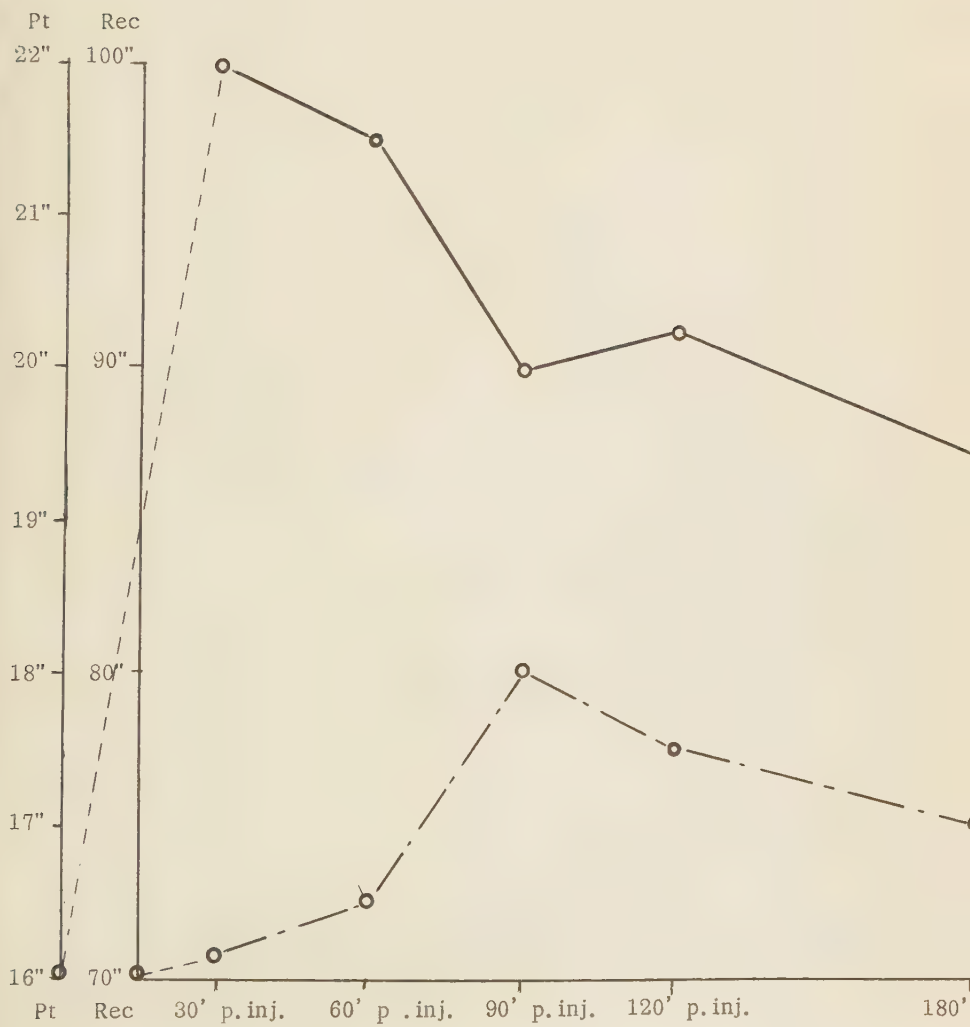
6 St. p. inj.

8 St. p. inj.

12 St. p. inj.

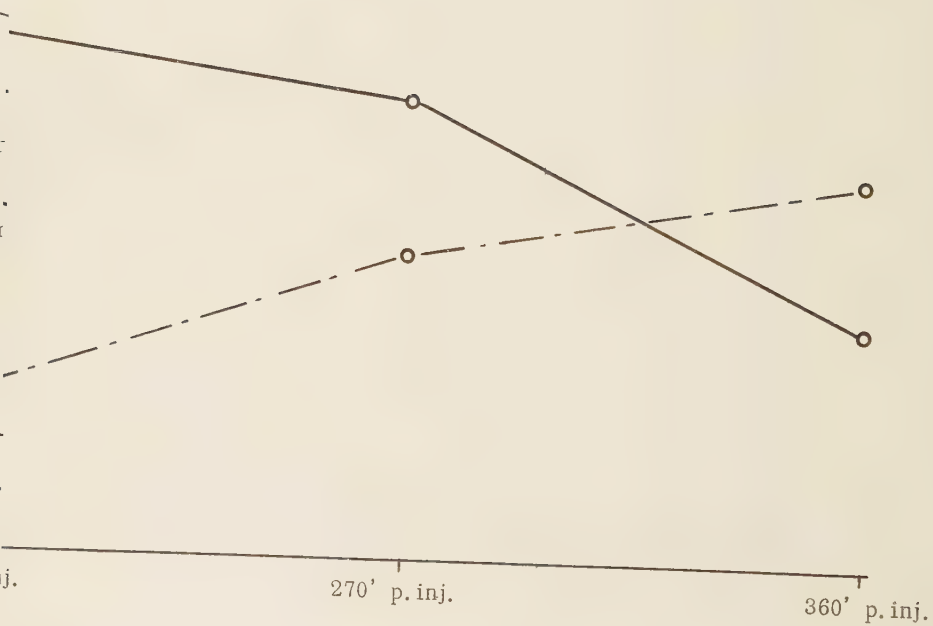
6

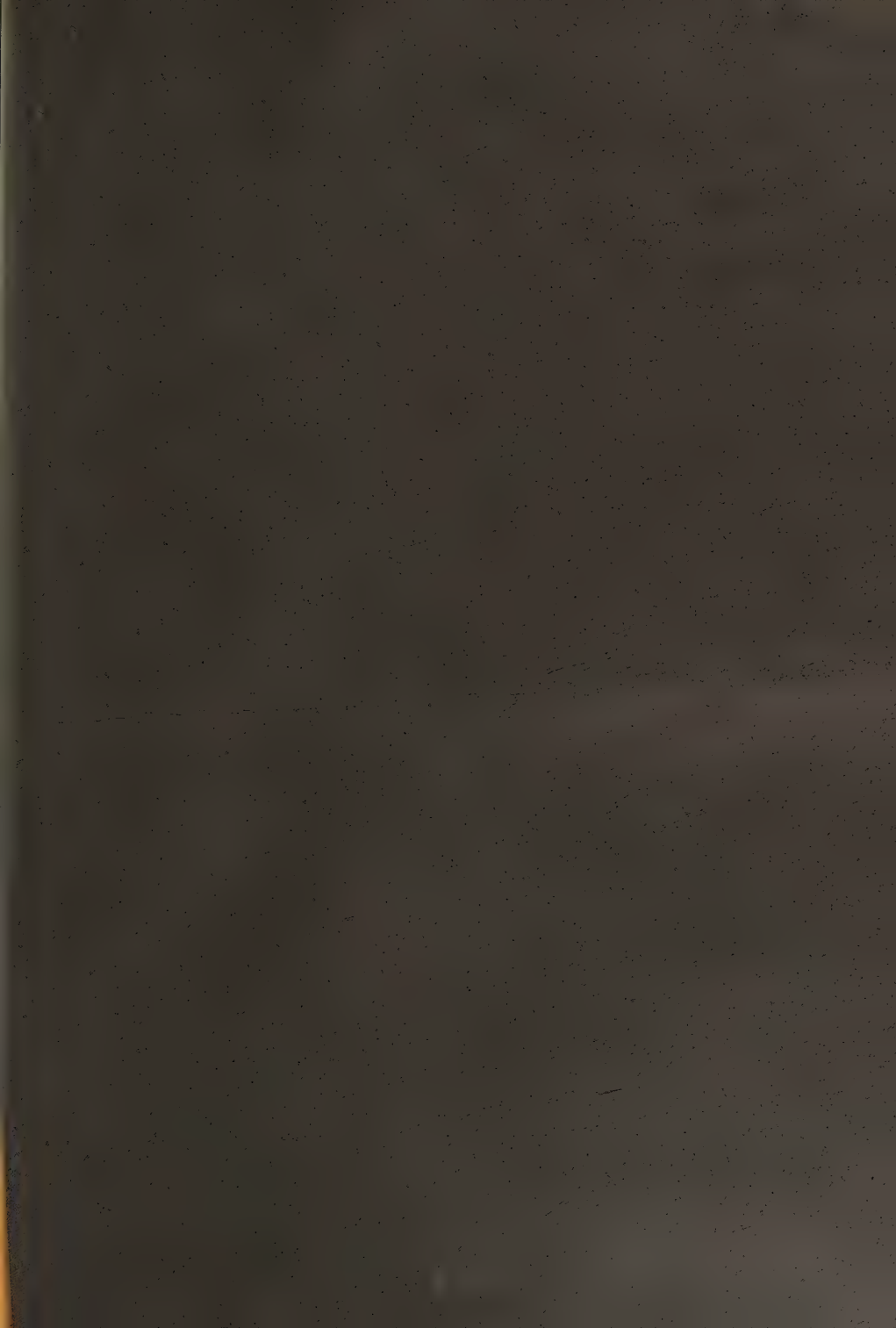


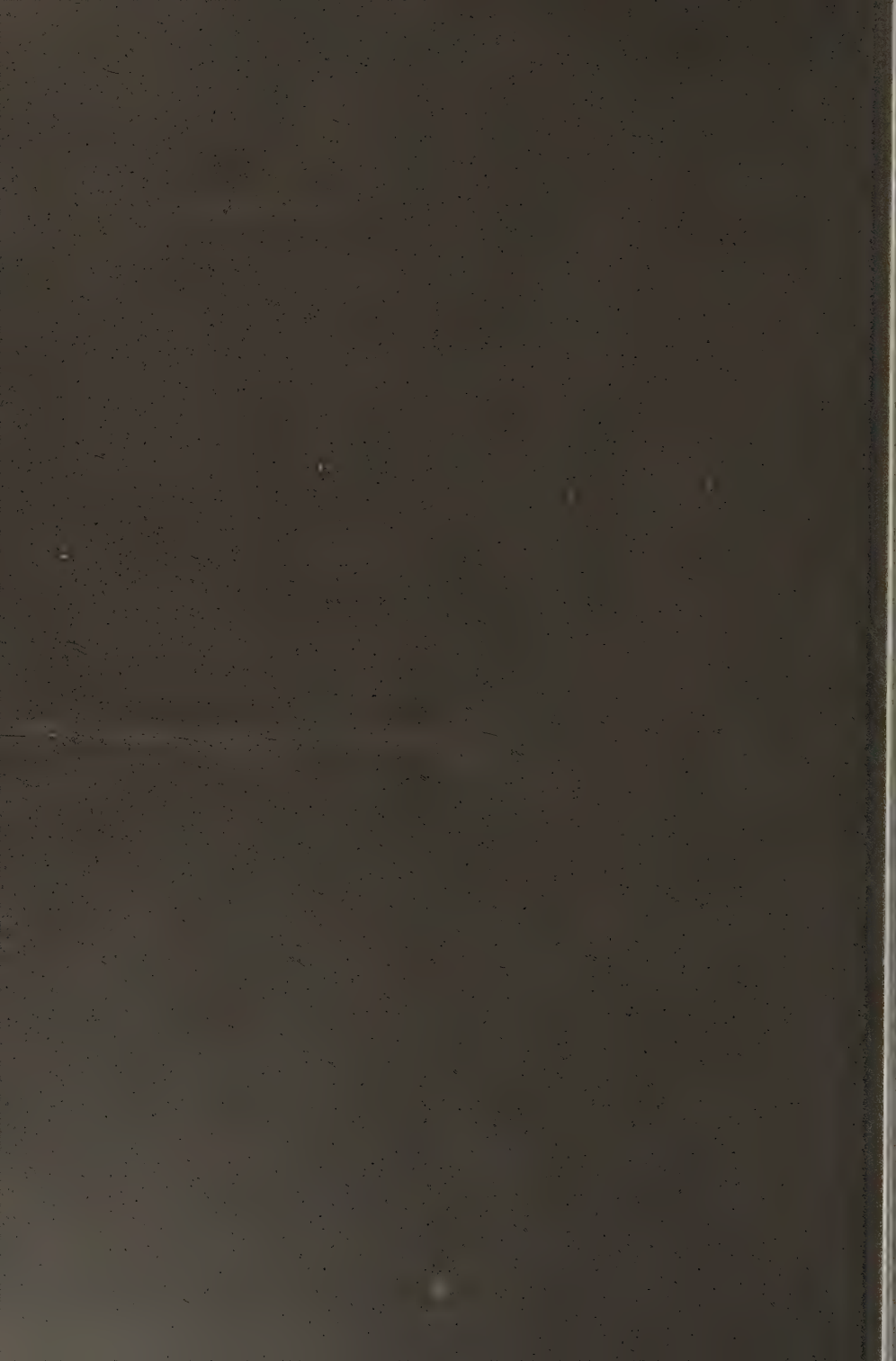


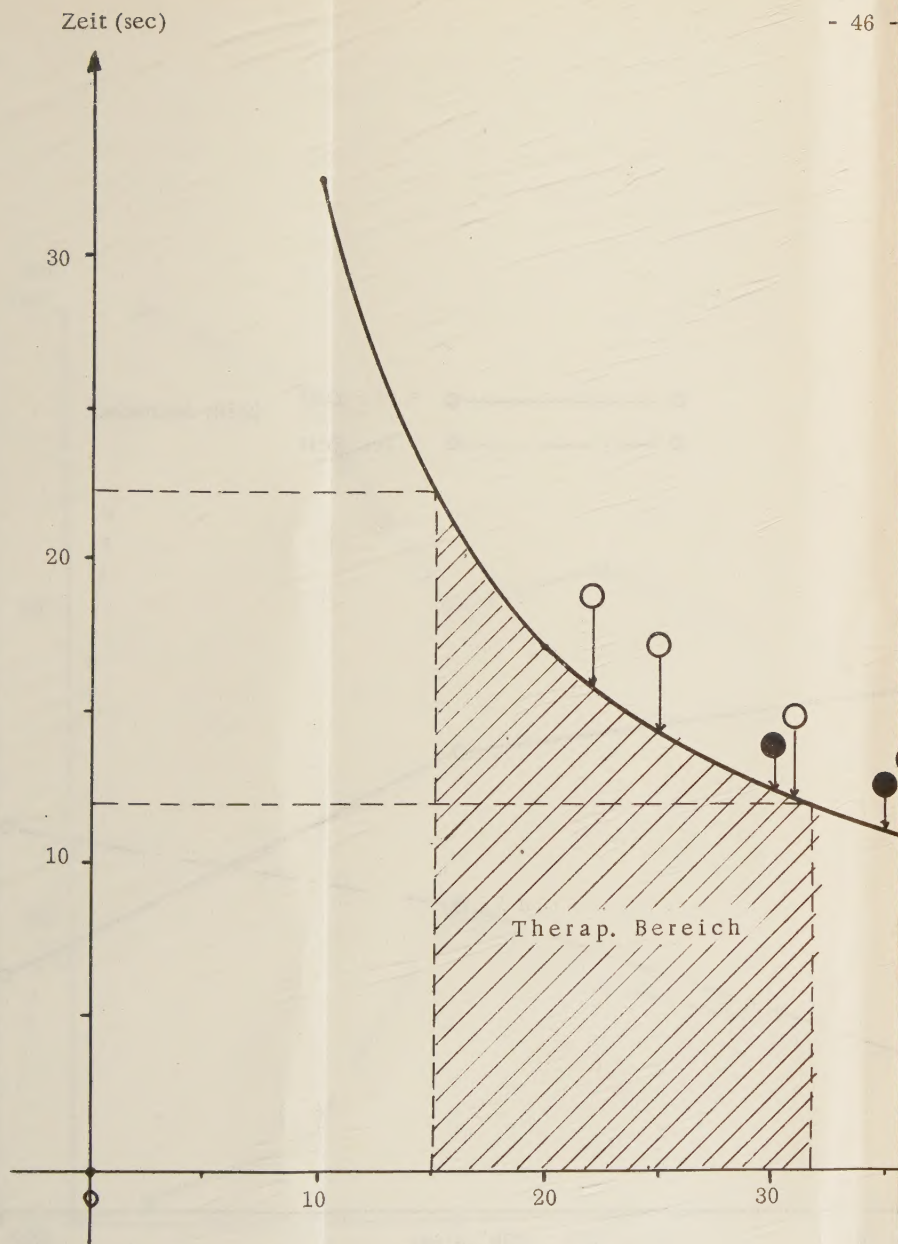
F i g u r e

○ ———— ○ = Pt - Zeit
○ - - - - - ○ = Rec-Zeit
beim Menschen









Figur

